

MGR ALEKSANDRA GLAPA-NOWAK

**WYBRANE MOLEKULARNE DETERMINANTY I KORELATY
CIĘŻKOŚCI PRZEBIEGU NIESWOISTYCH ZAPALEŃ JELIT
I MUKOWISCYDOZY**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Jarosław Walkowiak

Klinika Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych

I Katedra Pediatrii



Wydział Lekarski I

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2020

Źródło finansowania:

Grant Narodowego Centrum Nauki – Opus 13
nr 2017/25/B/NZ5/02783

Grant Narodowego Centrum Nauki – Preludium 13
nr 2017/25/N/NZ5/02126

Grant Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
dla młodych naukowców
nr 502-14-01103115-10585

Promotorowi

Panu Prof. dr hab. n. med. Jarosławowi Walkowiakowi

bardzo serdecznie dziękuję za cierpliwość i wyrozumiałość,

zaangażowanie, poświęcony czas

oraz nieustające wsparcie

w rozwoju mojej kariery naukowej

Pragnę podziękować

Koleżankom i Kolegom ze wszystkich ośrodków za pomoc w rekrutacji pacjentów do badań

Koleżankom i Kolegom z Pracowni Analityki Klinicznej i Badań Czynnościowych Przewodu

Pokarmowego za zaangażowanie oraz życzliwość i okazane wsparcie, a w szczególności

Pani Dr Annie Bukowskiej-Posadzy i Panu Dr. Mariuszowi Szczepanikowi

za pomoc w przygotowaniu kwestionariuszy użytych w badaniu

Panu Profesorowi Karłowi H. Herzigowi wraz z zespołem

za możliwość odbycia stażu

Pacjentom za udział w badaniach

Wykaz skrótów

APOE	apolipoproteina E (ang. <i>apolipoprotein E</i>)
CARD15	domena aktywacji lub rekrutacji kaspaz (ang. <i>caspase activation and recruitment domain 15</i>)
ChLC	choroba Leśniowskiego-Crohna (ang. <i>Crohn's disease</i>)
CFTR	przebłonowy regulator przewodnictwa – białko (ang. <i>cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>)
CRD	domena rozpoznawania węglowodanów (ang. <i>carbohydrate recognition domain</i>)
CUB	domena zawierająca element układu dopełniacza C1r/C1s, zarodkowy czynnik wzrostu zbadany po raz pierwszy w jeżowcu oraz białko morfogenetyczne kości (ang. <i>C1r/C1s, urchin embryonic growth factor, bone morphogenetic protein-1</i>)
C1q	białko C1q układu dopełniacza (ang. <i>complement component 1q</i>)
DMBT1	białko usunięte w złośliwych guzach mózgu (ang. <i>deleted in malignant brain tumors 1</i>) także SALSA, SAG, gp340
DNA	kwasy deoksyrybonukleinowe (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
EDTA	kwasy wersenowe (ang. <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
EGF	naskórkowy czynnik wzrostu (ang. <i>epidermal growth factor</i>)
ELISA	test immunoenzymatyczny (ang. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
ERE	rejon wrażliwy na działanie estrogenu (ang. <i>estrogen response element</i>)
FAM	6 – karboksylfluoresceina, barwnik fluorescencyjny (ang. <i>fluorescein amidites</i>)
FEV1	natężona objętość wydechu pierwszosekundowa (ang. <i>forced expiratory volume in 1 second</i>)
FOXO3P	czynnik transkrypcyjny FOXO3P (ang. <i>forkhead box O family</i>)
gp340	glikoproteina o masie 340 kDa (ang. <i>glycoprotein with a molecular mass of 340 kDa</i>)
HDL	lipoproteina o wysokiej gęstości (ang. <i>high-density lipoprotein</i>)
HIV-1	wirus niedoboru odporności typu 1 (ang. <i>human immunodeficiency viruses type 1</i>)
HLA DRB*0103	receptor DRB*0103 kodowany przez kompleks HLA (ang. <i>human leukocyte antigen</i>)
MBL	białko/lektyna wiążąca mannozę (ang. <i>mannose-binding lectin</i>)
NOD2	białko biorące udział w regulacji układu odpornościowego, wewnątrzkomórkowy receptor rozpoznający wzorce (ang. <i>nucleotide-binding oligomerization domain containing 2</i>)
NZJ	nieswoiste zapalenia jelit (ang. <i>inflammatory bowel disease</i>)
PBMC	komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (ang. <i>peripheral blood mononuclear cells</i>)

PCDAI	pediatryczna skala oceny aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna (ang. <i>pediatric Crohn's disease activity index</i>)
PSC	zapalenie dróg żółciowych (ang. <i>primary sclerosing cholangitis</i>)
PUCAI	pediatryczna skala oceny aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (ang. <i>pediatric ulcerative colitis activity index</i>)
SAG	aglutynina ślinowa (ang. <i>salivary agglutinin</i>) także SALSA, DMBT1, gp340
SALSA	aglutynina ślinowa (ang. <i>salivary scavenger and agglutinin</i>) także DMBT1, SAG, gp340
SD	odchylenie standardowe (ang. <i>standard deviation</i>)
SFTPD	białko surfaktantu D (ang. <i>surfactant protein D</i>)
SID	domeny występujące między domenami SRCR (ang. <i>SRCR interspersed domains</i>)
SNP	polimorfizm pojedynczego nukleotydu (ang. <i>single nucleotide polymorphism</i>)
SP-A	białko surfaktantu A (ang. <i>surfactant protein A</i>)
SP-B	białko surfaktantu B (ang. <i>surfactant protein B</i>)
SP-C	białko surfaktantu C (ang. <i>surfactant protein C</i>)
SP-D	białko surfaktantu D (ang. <i>surfactant protein D</i>)
SRCR	receptor zmiatacza bogaty w cysteinę (ang. <i>scavenger receptor cysteine-rich</i>)
Th	subpopulacja limfocytów T pomocniczych (ang. <i>T helper</i>)
TNF- α	czynnik martwicy nowotworów (ang. <i>tumor necrosis factor α</i>)
TPMT	enzym S-metylotransferaza tiopuryny (ang. <i>thiopurine S-methyltransferase</i>)
UTR	rejon mRNA niepodlegający translacji (ang. <i>untranslated region</i>)
VEGF	czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (ang. <i>vascular endothelial growth factor</i>)
VIC	2-chloro-7-fenyl-1,4-dichloro-6- karboksylfluoresceina, barwnik fluorescencyjny
VLDL	lipoproteina bardzo małej gęstości (ang. <i>very low density lipoprotein</i>)
WZJG	wrzodziejące zapalenie jelita grubego (ang. <i>ulcerative colitis</i>)
ZP	domena białka DMBT1 (ang. <i>zona pellucida</i>)

Słowa kluczowe: APOE, białko surfaktantu, DMBT1, ekspresja kliniczna, mukowiscydoza, nieswoiste zapalenie jelit, polimorfizm, białko surfaktantu D, telomer

Key words: APOE, surfactant protein, DMBT1, clinical expression, cystic fibrosis, inflammatory bowel disease, polymorphism, surfactant protein D, telomere

Spis treści

1	Wstęp.....	10
1.1	Nieswoiste zapalenia jelit.....	10
1.1.1	Rys historyczny.....	10
1.1.1.1	Wrzodzące zapalenie jelita grubego	11
1.1.1.2	Choroba Leśniowskiego-Crohna	13
1.1.2	Epidemiologia.....	16
1.1.3	Etiologia.....	16
1.1.4	Leczenie	17
1.2	Mukowiscydoza	18
1.2.1	Rys historyczny.....	18
1.2.2	Epidemiologia.....	19
1.2.3	Etiologia.....	19
1.2.4	Leczenie	21
1.3	Telomery.....	21
1.4	Apolipoproteina E.....	23
1.5	Cząsteczki rozpoznające wzorce.....	24
1.5.1	Białko DMBT1	24
1.5.2	Białko surfaktantu D	26
2	Cele	29
3	Pacjenci i metody	30
3.1.	Schemat pracy.....	30
3.2.	Pacjenci	30
3.2.1.	Badanie dotyczące polimorfizmów w nieswoistych zapaleniach jelit	30
3.2.2.	Badanie dotyczące względnej długości telomerów w mukowiscydozie	31
3.3.	Metody badań.....	33
3.3.1.	Badanie dotyczące polimorfizmów w nieswoistych zapaleniach jelit	33
	Ekspresja kliniczna nieswoistych zapaleń jelit	33

Lokalizacja.....	33
Ocena stanu zapalnego.....	34
Wskaźniki aktywności choroby	34
Współwystępowanie innych chorób oraz objawów pozajelitowych.....	37
Stosowane leczenie	37
Ocena ciężkości przebiegu nieswoistych zapaleń jelit.....	37
Ocena subiektywnych doznań psychofizycznych w trakcie przebiegu choroby przewlekłej	37
Izolacja materiału genetycznego	38
Genotypowanie	38
3.3.2. Badanie dotyczące względnej długości telomerów w mukowiscydozie	39
Ekspresja kliniczna mukowiscydozy	39
Ocena ciężkości przebiegu mukowiscydozy.....	40
Izolacja materiału genetycznego	40
Analiza względnej długości telomerów	40
Elektroforeza agarozowa DNA.....	41
3.3.3. Stan odżywienia uczestników badań.....	42
3.3.4. Analiza statystyczna.....	42
3.3.5. Zagadnienia etyczne.....	43
4. Wyniki.....	44
4.1. Badanie dotyczące polimorfizmów w nieswoistych zapaleniach jelit	44
4.1.1. Charakterystyka badanej grupy.....	44
4.1.2. Stan odżywienia uczestników badania.....	45
4.1.3. Ekspresja kliniczna nieswoistych zapaleń jelit	48
Lokalizacja.....	48
Ocena stanu zapalnego.....	51
Wskaźniki aktywności choroby	51
Współwystępowanie innych chorób oraz objawów pozajelitowych.....	52
Stosowane leczenie	52
4.1.4. Ocena ciężkości przebiegu nieswoistych zapaleń jelit.....	57
4.1.5. Ocena subiektywnych doznań psychofizycznych w trakcie przebiegu choroby przewlekłej	59
4.1.6. Genotypowanie	63

Apolipoproteina E	63
Białko DMBT1	67
Białko surfaktantu D	68
4.1.7. Analiza związku badanych polimorfizmów z ekspresją kliniczną choroby	70
Analiza związku badanych polimorfizmów z wiekiem postawienia diagnozy i najcięższego rzutu.	70
Analiza związku badanych polimorfizmów ze stanem odżywienia	72
Analiza związku badanych polimorfizmów ze stanem zapalnym	82
Analiza związku badanych polimorfizmów ze wskaźnikami aktywności choroby	86
Analiza związku badanych polimorfizmów z objawami współwystępującymi	90
Analiza związku badanych polimorfizmów ze stosowanym leczeniem	93
Analiza związku polimorfizmów z koniecznością stosowania glikokortykosteroidoterapii systemowej	93
Analiza związku polimorfizmów z koniecznością stosowania leczenia immunosupresyjnego	94
Analiza związku polimorfizmów z koniecznością stosowania leczenia biologicznego	97
Analiza związku polimorfizmów ze stosowanym leczeniem chirurgicznym	100
Analiza związku badanych polimorfizmów z wybranymi parametrami opisującymi ciężkość przebiegu choroby	103
Liczba hospitalizacji	103
Liczba dni hospitalizacji	105
Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania	107
Analiza związku badanych polimorfizmów z subiektywnymi doznaniem psychofizycznymi w trakcie przebiegu choroby przewlekłej	111
4.2. Badanie dotyczące względnej długości telomerów w mukowiscydozie	116
4.2.1. Charakterystyka badanych grup	116
4.2.2. Stan odżywienia uczestników badania	118
4.2.3. Ekspresja kliniczna choroby	118
Współwystępowanie innych chorób	119
Stosowane leczenie	119
4.2.4. Ocena ciężkości przebiegu mukowiscydozy	120
4.2.5. Względna długość telomerów a ekspresja mukowiscydozy i ciężkość jej przebiegu	121
5. Dyskusja	128
6. Wnioski	139

7.	Streszczenie	140
8.	Summary	143
9.	Aneks.....	146
11.	Piśmiennictwo	150

1 WSTĘP

1.1 Nieswoiste zapalenia jelit

Nieswoiste zapalenia jelit (NZJ, ang. inflammatory bowel disease) są grupą chorób charakteryzującą się przewlekłym zapaleniem przewodu pokarmowego. Zalicza się do nich wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG, ang. ulcerative colitis) oraz chorobę Leśniowskiego-Crohna (ChLC, ang. Crohn's disease), a także rzadsze choroby jak eozynofilowe zapalenie jelit, choroba Behçeta czy kolagenowe zapalenie jelita grubego (1). Podłoże tych chorób jest wieloczynnikowe, a dokładna etiologia NZJ nie została jeszcze poznana. Dotychczasowe badania sugerują, że nieprawidłowości w układzie immunologicznym pacjentów mogą być spowodowane działaniem czynników zarówno genetycznych, jak i środowiskowych (2). ChLC, w odróżnieniu od WZJG, charakteryzuje się występowaniem zmian zapalnych w całym przewodzie pokarmowym. Zmiany te – takie jak owrzodzenia, ropnie, przetoki czy zwężenia – obejmują całą grubość ściany jelita, podczas gdy w WZJG zajęte są tylko błona śluzowa i podśluzowa jelita grubego. Ponadto, w przeciwieństwie do WZJG, w którym występują owrzodzenia ciągłe, ale płytkie, zmiany w ChLC mają charakter ogniskowy. Obie jednostki różnią się też obrazem klinicznym, wynikami badań dodatkowych oraz charakterem powikłań. Przebieg chorób oraz ich aktywność są zależne od wielu czynników, takich jak: podłoże genetyczne, układ immunologiczny, mikrobiota jelitowa i wpływ środowiska (3).

1.1.1 Rys historyczny

NZJ najprawdopodobniej występowały przez setki, jeśli nie tysiące lat ludzkiej historii. Od czasu najwcześniejszych opisów, choroby te ewoluowały, a w ciągu ostatnich 50 lat ich zrozumienie znacznie poprawiło się dzięki osiągnięciom genetyki, biologii molekularnej i immunologii.

1.1.1.1 Wrzodziejące zapalenie jelita grubego

Pierwsze wzmianki na temat NZJ dotyczyły WZJG, chociaż bez wątplenia obie jednostki, zarówno WZJG, jak i ChLC, dotyczyły pacjentów na długo zanim współczesna medycyna zdołała je rozróżnić.

Doniesienia na temat przewlekłej biegunki sięgają czasów greckiego antyku (4). Już Hipokrates (460-370 r. p.n.e.) omówił wiele możliwych jej przyczyn (4). Zapalenie było uznawane jako przyczyna chorób jelit w kilku szkołach medycznych na początku XIX wieku. François Broussais (1772-1838) i John Brown (1810-1882) wysunęli śmiałą teorię, że wszystkie choroby człowieka są związane ze stanem zapalnym w przewodzie pokarmowym (5).

Po raz pierwszy termin „wrzodziejące zapalenie jelita grubego” został użyty w 1859 r. przez londyńskiego lekarza i patologa Sir Samuel Wilksa (1824-1911) (6). W swej pracy wyróżniał on: zapalenie jelita cienkiego, zapalenie jelita grubego, zapalenie kątnicy, tyfus, zapalenie epidemiczne i gruźlicę jelit (6). Podobne przypadki poważnych, uporczywych chorób biegunkowych, które nie wydawały się być pochodzenia zakaźnego, opisywano jeszcze w drugiej połowie XIX wieku. W 1888 r. Sir William Hale White opublikował dokładny opis przypadków WZJG (7). To właśnie za sprawą tej publikacji, termin "wrzodziejące zapalenie jelita grubego" wszedł do ogólnego słownictwa medycznego.

Rok 1909 uznaje się za przełomowy dla WZJG. Odbyło się wtedy sympozjum Królewskiego Towarzystwa Medycznego (ang. *Royal Society of Medicine*), na którym zaprezentowano ponad 300 przypadków WZJG (8). Dyskusje dotyczyły m.in. czynników ryzyka, objawów i prób leczenia (np. narkotykami, lekami ściągającymi, antyseptycznymi i uspokajającymi) (8). W tym samym roku John Percy Lockhart-Mummery (1875-1957) wskazał, że sigmoidoskopia – badanie endoskopowe ostatnich 60-80 cm jelita grubego – jest bezpieczną i skuteczną metodą badania odbytnicy i esicy, pozwalającą na postawienie poprawnej diagnozy (9). Również w 1909 r. na łamach *British Medical Journal* postulowano, że za chorobę odpowiedzialne są „aktywne czynniki bakteryjne”, które muszą zostać poznane, aby móc kontrolować jej przebieg i wdrożyć odpowiednie leczenie (10).

W kolejnych latach, stopniowo zwiększała się wiedza na temat WZJG. W 1938 r. Lewisohn zwrócił uwagę, że WZJG ma tendencję do występowania rodzinnego (11).

Hewitt opisał występowanie polipów (12). Wangensteen zauważył związek między występowaniem WZJG i raka jelita grubego (13). Pierwszy opis choroby u dzieci pojawił się w 1923 r. i dotyczył pacjentów w wieku od 8 do 15 (14). Zaproponowano też nowe metody leczenia WZJG, takie jak ileostomia (15) czy transfuzja krwi (16). Początkowo leczenie chirurgiczne WZJG stosowano sporadycznie i najczęściej eksperymentalnie. Dopiero po 1930 r. interwencje chirurgiczne zaczęły stopniowo stawać się rutynową praktyką. Niektórych z tych technik zaprzestano, ale wiele nadal pozostaje w użyciu (ileostomia, kolektomia) (17,18). Inną terapię stanowiło karmienie pacjentów surowym świńskim jelitem cienkim (tzw. organoterapia) (19). Stosowano także leczenie jonizacyjne, które polegało na nawadnianiu jelita roztworem cynku, a następnie uruchomieniu przepływu prądu elektrycznego przez roztwór (20).

W latach 40-tych XX wieku WZJG przyciągało uwagę lekarzy różnych specjalności. W 1949 r. Warren i Sommers opublikowali pierwszy obszerny opis anatomopatologiczny WZJG ze zdjęciami i obrazami mikroskopowymi przedstawiającymi naczynia i ropnie (21). Coraz częściej używano opisów do oceny stopnia choroby i identyfikowania przewężeń (22). W tym okresie występowanie WZJG często wiązano z zaburzeniami psychicznymi (23). Erich Wittkower (1899-1983) opisał, że aż 70% (28/40) pacjentów z WZJG doświadczyło emocjonalnej traumy, która bezpośrednio poprzedzała wystąpienie choroby (22,23). W leczeniu niektórych przypadków WZJG stosowano psychoterapię (25).

Wkrótce po zakończeniu II wojny światowej rozpoczęła się era randomizowanych badań klinicznych, które miały na celu ocenę skuteczności interwencji farmakologicznych w tej jednostce chorobowej. Kluczowym badaniem tego okresu był wyczerpujący opis 2000 pacjentów z WZJG opublikowany przez Sloana i wsp. w 1950 (26). W 1955 r. Truelove i Witts opublikowali wyniki pierwszego eksperymentu ze ślełą próbą, które wykazało poprawę i zmniejszenie śmiertelności u pacjentów z WZJG przyjmujących glikokortykosteroidy (27).

W 1948 r. szwedzki lekarz Nanna Svartz zauważył, że objawy WZJG ulegają złagodzeniu po podaniu pacjentom sulfasalazyny (28). Odkrycia dokonał próbując wyleczyć zapalenie stawów swego króla – Gustawa V. Svartz zsyntetyzował nowy lek o działaniu przeciwzapalnym, przez chemiczne związanie znanego antybiotyku sulfapirydyny z kwasem 5-aminosalicylowym. Po analizie, zauważono wyraźną poprawę nie tylko u pacjentów z zapaleniem stawów, ale także z WZJG (29).

W latach 60-tych Bean i wsp. udokumentowali u pacjentów z WZJG skuteczność leku immunosupresyjnego – merkaptopuryny (6-MP) (30,31). Dziś wiadomo, że 6-MP hamuje proliferację komórek, naśladując strukturą puryny i w ten sposób zaburzając syntezę DNA. Hamowanie syntezy DNA najbardziej wpływa na szybko dzielące się komórki, takie jak progenitory leukocytów. W 1970 r. okazało się, że w leczeniu WZJG skuteczna jest również azatiopryna, która jest metabolizowana do 6-MP (32). W 1975 r. w badaniu randomizowanym z podwójnie ślepą próbą porównano azatioprynę z sulfasalazyną i wykazano podobną skuteczność obu interwencji (33). Zasadniczą wadą tiopuryn jest ryzyko powikłań związanych z supresją szpiku kostnego. W roku 1980 stwierdzono, że pacjenci z niską aktywnością metylotransferazy tiopuryny (TPMT), enzymu odpowiedzialnego za inaktywację leku, są szczególnie narażeni na takie komplikacje (34). Stąd sugeruje się określenie wariantu genetycznego *TPMT* u pacjentów przed rozpoczęciem leczenia azatiopryną lub 6-MP. Wykazano, że kluczową rolę w procesach zapalnych w NZJ pełni cytokina nazywana czynnikiem martwicy nowotworu (TNF- α), a przeciwciała poliklonalne przeciwko TNF- α zostały po raz pierwszy użyte w modelu zwierzęcym sepsy w 1985 r. (35). Obecnie, przeciwciała monoklonalne anty-TNF- α , takie jak infliksimab i adalimumab są rutynowo stosowane w terapii umiarkowanej, ciężkiej i odpornej postaci WZJG (36).

Postęp jaki dokonał się w zakresie WZJG w ostatnich 60 latach był w dużej mierze możliwy dzięki rozwojowi technik biologii molekularnej i genetyki. Znacząca liczba publikacji próbujących uchwycić podłoże molekularne choroby potwierdza jej złożoność i ciągle niejasną etiologię.

1.1.1.2 Choroba Leśniowskiego-Crohna

Pierwsze wzmianki o ChLC dotyczą króla Anglii Alfreda Wielkiego (849-899), który zapadł na chorobę objawiającą się m.in. biegunką, bólami brzucha i bólami podczas połykania. Również król Francji Ludwik XIII (1601-1643) cierpiał z powodu przewlekłych biegunek, z towarzyszącą gorączką i ropniami okołoodbytniczymi. Król zmarł w wieku 42 lat, a sekcja po śmierci wykazała owrzodzenia w jelicie cienkim i grubym, z ropniami i przetokami, co zdiagnozowano później jako ChLC lub gruźlicę końcowego odcinka jelita cienkiego i jelita grubego (37,38).

Znaczące opisy ChLC zawdzięczmy Giovanniemu Battistcie Morgagniniemu (1682-1771), znanemu jako "ojciec anatomii patologicznej" (39). Opisał on przypadek (1761 r.) 20-letniego mężczyzny, który zmarł po długotrwałej chorobie z gorączką, bólami brzucha i krwawą biegunką. Autopsja wykazała perforacje i stan zapalny z owrzodzeniem rozciągający się od końcowego odcinka jelita krętego na "dwie ręce" szerokości wzdłuż okrężnicy. Raport opisuje również powiększenie węzłów chłonnych krezki i śledziony (40). Co ciekawe, pierwszy przypadek WZJG opisany w 1859 przez Samuela Wilksa być może dotyczył także ChLC (41), opisywanego wcześniej jako np. "odcinkowe zapalenie jelita krętego" (42,43).

W 1904 r. choroba została opisana przez polskiego lekarza Antoniego Leśniowskiego (1867-1940) (44). Dr Leśniowski był dyrektorem Szpitala św. Antoniego w Warszawie w latach 1912-1914, a od 1919 r. profesorem Uniwersytetu Warszawskiego i ordynatorem oddziału chirurgii w Szpitalu św. Ducha. Swoje spostrzeżenia dotyczące przypadku guza zapalnego jelita cienkiego z przetoką do wstępnicy opublikował (1903 r.) w tygodniku dla lekarzy rodzinnych zatytułowanym „Medycyna” w artykule pt. „Przyczynek do chirurgii kiszek”(44).

Pierwszą serię opisów przypadków ChLC opublikował szkocki chirurg Thomas Kennedy Dalziel (1861-1924) w roku 1913 (45). Dalziel opisywał jelita chorych porównując je do węgorza w stanie stężenia pośmiertnego. Dwa spośród przedstawianych przypadków były śmiertelne z uwagi na rozległość i liczbę zwężeń. Pozostałych pacjentów (w tym 10-letniego chłopca) skutecznie wyleczono. Dalziel zauważył również zajęcie okrężnicy u tychże chorych oraz zaproponował nazwę "rozrostowe zapalenie jelit" (ang. hyperplastic enteritis).

Kolejny artykuł identyfikujący ChLC został napisany przez lekarzy ze szpitala Mount Sinai w Nowym Jorku i został opublikowany w październiku 1932 w Journal of American Medical Association (46). Chorobę nazwano "regionalnym zapaleniem jelita krętego" i opisano ją u 14 pacjentów w wieku od 17 do 52 lat. Na stan patologiczny składały się przewlekłe i martwicze zapalenia w końcowym odcinku jelita cienkiego, a także przezścienne zapalenie, zwężenia i przetoki. Pomimo pewnej sławy, artykuł ten był przedmiotem kontrowersji.

Dokładniejszy opis ChLC pojawił się w publikacji Burrilla Bernarda Crohna (1884-1983) w 1932 r., a dzisiejsza nazwa choroby pochodzi właśnie od niego (46). Dr Burril B.

Crohn urodził się w Nowym Jorku w rodzinie emigrantów żydowskich, jego dziadek pochodził z Niemiec, a babka z Polski (47). Publikację, której został współautorem, wstępnie napisali Leon Ginzburg (1898–1988) oraz Gordon D. Oppenheimer (1900-1974). Obejmowała ona 12 pacjentów doktora Berga, starszego lekarza w tym samym szpitalu (48). Prawdopodobnie Ginzburg i Oppenheimer napisali większość manuskryptu i chcieli dołączyć doktora Berga jako współautora. Jednakże Berg odmówił, bo nie był wcześniej zaangażowany w projekt. Ginzburg i Oppenheimer chcąc zwiększyć liczbę przypadków klinicznych w pracy, nawiązali kontakt z Crohmem. Wkrótce potem artykuł został opublikowany z dwoma dodatkowymi przypadkami i pierwszym współautorstwem Crohna. Zgodnie z polityką wydawniczą w owym czasie, nazwiska współautorów manuskryptu szeregowano alfabetycznie (49). Crohn zapewne nie spodziewał się, że choroba zostanie nazwana jego nazwiskiem, wszak artykuł proponował nazwę choroby – regionalne zapalenie jelita krętego. Jeszcze w roku 1958 choroba była znana pod nazwami „*ileitis terminalis*”, „*regional ileitis*”, „*ileo-jejunitis*”, „*chronic cicatrizing enteritis*”, „*ileo-colitis*”, „*chronic ulcerative colitis*”, a także „*regional colitis*” oraz „*segmental colitis*” (47). W kolejnych latach udowodniono, że ChLC występuje w całym przewodzie pokarmowym. Choroba została opisana w przełyku, żołądku, dwunastnicy i jelicie czczym (50–52). W tym czasie opisywano również pacjentów w wieku 80 lat (53), a także wiele przypadków dzieci w wieku poniżej 10 lat (54).

ChLC stała się powszechnie rozpoznawalna w 1956 r. za sprawą operacji chirurgicznej prezydenta Stanów Zjednoczonych Dwighta Davida Eisenhowera, od lat cierpiącego na bóle brzucha (55). Choroba stała się dzięki temu znana szerszemu gronu zarówno specjalistów, jak i laików.

Po II wojnie światowej, nastąpił gwałtowny wzrost liczby randomizowanych badań dotyczących terapii ChLC, jak również badań epidemiologicznych. Wiele prac dotyczących ChLC w drugiej połowie 20. wieku obejmowało również pacjentów z WZJG. W 1960 r. Hugh Evelyn Lockhart-Mummery (1918-1988) zauważył różnicę pomiędzy obrazem klinicznym zapalenia okrężnicy chorych na WZJG i ChLC (56) i wysnuł koncepcję, że są to oddzielne jednostki kliniczne. Koncepcja napotkała duży opór wielu wybitnych lekarzy, w tym również samego Crohna (57).

1.1.2 Epidemiologia

Epidemiologia NZJ różni się w zależności od pochodzenia etnicznego oraz lokalizacji geograficznej danej populacji (58). Najnowszy przegląd systematyczny obejmujący 147 badań od 1990 do 2016 r. wskazuje największą częstość występowania NZJ w Europie (WZJG w Norwegii 505/100 000; ChLC w Niemczech 322/100 000) i Ameryce Północnej (WZJG w USA 286/100 000; ChLC w Kanadzie 319/100 000) (59).

W ostatnich latach odnotowuje się stabilną lub nawet zmniejszającą się zapadalność na NZJ w Europie w Ameryce Północnej (59). Od 1990 r. zapadalność wzrasta z kolei w krajach nowo uprzemysłowionych (59–61). Analiza epidemiologiczna wykazała, że częstość występowania NZJ w Polsce w 2017 r. wynosiła 180-200/100 000 (62).

1.1.3 Etiologia

Podłoże NZJ jest wieloczynnikowe, a dokładna etiopatogeneza jest złożona i nie została jeszcze dokładnie poznana. Dotychczasowe badania sugerują, że biorą w niej udział zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe (2,63,64).

Wśród czynników środowiskowych pełniących kluczową rolę w patogenezie NZJ wymienia się palenie papierosów (65,66), dietę (67,68), stosowane leki (69–71), stres (72,73) czy zanieczyszczenie powietrza (74,75). Przegląd 53 meta-analiz badań obserwacyjnych obejmujący 71 czynników środowiskowych (1989-2018) zidentyfikował czynniki zwiększające ryzyko NZJ takie jak: palenie (ChLC), życie w mieście (ChLC i NZJ), wycięcie wyrostka robaczkowego (ChLC) i migdałków (ChLC), ekspozycja na antybiotyki (NZJ), doustna antykoncepcja (NZJ), spożycie napojów bezalkoholowych (WZJG), niedobór witaminy D (NZJ) (76). Zidentyfikowano też czynniki zmniejszające ryzyko NZJ, takie jak: aktywność fizyczna (ChLC), karmienie piersią (NZJ), współdzielenie łóżka (ChLC), spożywanie herbaty (WZJG), wysokie stężenie kwasu foliowego (NZJ) i witaminy D (ChLC) w surowicy (76).

Dotychczasowe badania wskazują na niebagatelną rolę mikrobioty jelitowej w NZJ. Dowiedziono, że pacjenci z NZJ charakteryzują się mniejszą bioróżnorodnością mikrobiomu stolca niż osoby zdrowe (77) oraz mniejszą jej stabilnością (78,79). Wielokrotnie wskazywano na czynniki etiologiczne takie jak toksyny, wirusy, bakterie i grzyby (80–82). Ostatnie badania wskazują, że nadmierne spożycie soli ma wpływ na skład flory jelitowej i może przyczyniać się do rozwoju NZJ (83).

Równie ważnym czynnikiem etiologicznym w rozwoju chorób zapalnych jelit jest komponent genetyczny. Do tej pory zidentyfikowano 240 loci ryzyka NZJ (84). Jednym z najlepiej poznanych genów, którego polimorfizmy uznaje się za czynnik predysponujący do ChLC jest gen *NOD2/CARD15* (chromosom 16) (85,86). Warianty w genie *NOD2* związane są z lokalizacją choroby w jelicie cienkim, fenotypem ze zwężeniami oraz wcześniejszą interwencją chirurgiczną (87–93). Mimo wielu badań nad tym zagadnieniem użyteczność kliniczna jego polimorfizmów pozostaje niepotwierdzona. Dostępne dane literaturowe są w tym względzie sprzeczne (94,95). Opisano kilka innych wariantów genetycznych, takich jak na przykład wariant czynnika transkrypcyjnego *FOXO3P* związany z cięższą postacią ChLC (96). Wartość prognostyczna wariantów genetycznych we WZJG wydaje się być lepiej ustalona, czego przykładem jest związek antygenu kompleksu zgodności tkankowej HLA DRB*0103 z rozległością i przebiegiem choroby (97,98).

1.1.4 Leczenie

Leczenie, zarówno ChLC, jak i WZJG, obejmuje stosowanie wielu podobnych leków, np. kwasu 5-aminosalicylowego, glikokortykosteroidów czy leków biologicznych. Jedynym lekiem stosowanym w leczeniu ChLC, ale nie WZJG, jest metotreksat (99). Podobnie jak tiopuryny, metotreksat został opracowany jako lek przeciwnowotworowy w latach 50-tych ubiegłego wieku, ale pierwsze badanie wykazujące wyraźne korzyści leczenia metotreksatem u pacjentów ChLC pojawiły się dopiero w roku 1989 (100). W 1990 r. odkrycie immunosupresyjnego działania metotreksatu zostało uhonorowane nagrodą Nobla (101). W ciągu ostatnich 20 lat leczenie NZJ koncentrowało się na glikokortykosteroidach i lekach immunomodulujących, głównie inhibitorach TNF- α , takich jak infliksimab czy adalimumab. Obecnie stosowane są także inne leki biologiczne: vedolizumab hamujący migrację leukocytów, tofacitinib hamujący wytwarzanie cytokin i ustekinumab – antagonist receptoru interleukiny 12 i 23 (102). Leki stosowane w terapii NZJ stają się coraz bardziej wyrafinowane. Również leczenie żywieniowe i zabiegi chirurgiczne uległy zmianie z upływem czasu. Wzrosła rola leczenia opartego na żywieniu enteralnym i dobrze dobranej diecie, zmniejszyła się częstość powikłań interwencji chirurgicznych oraz rozwinęła się diagnostyka NZJ (103). Metody badające transkryptom

i epigenom NZJ pozwalają na identyfikację biomarkerów pomocnych w doborze strategii terapeutycznej (104).

1.2 MUKOWISCYDOZA

Mukowiscydoza (ang. cystic fibrosis, CF) jest ogólnoustrojową chorobą genetyczną spowodowaną mutacjami w genie kodującym białko kanału jonowego CFTR (ang. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator). Gen *CFTR* zlokalizowany jest na chromosomie 7 (locus 7q31.2), a mutacje w jego obrębie powodują zaburzenia przezłonowego przepływu anionów chlorkowych. Skutkiem tego jest zwiększenie lepkości i gęstości wydzielanego śluzu, a w konsekwencji zaburzenia funkcjonalne i strukturalne gruczołów zewnątrzwydzielniczych, zwłaszcza układu oddechowego i pokarmowego.

1.2.1 Rys historyczny

Całe spektrum objawów klinicznych w mukowiscydozie zostało poznane dopiero w latach 30-tych XX wieku, choć pewne jej symptomy identyfikowano znacznie wcześniej. Przypuszcza się nawet, że mukowiscydoza pojawiła się około 3000 lat p.n.e. (105). W XVIII wieku w literaturze niemieckiej i szwajcarskiej pojawiały się wzmianki, że dziecko, które po pocałunku w czoło smakuje słoń, jest przekłute i wkrótce musi umrzeć (105). W XIX w. Carl von Rokitansky (1804-1878) opisał przypadek śmierci płodu z powodu niedrożności smółkowej, która prawdopodobnie wynikała z mukowiscydozy (105). Na niedrożność smółkową większą uwagę zwrócił w 1905 r. Karla Landsteiner (105). W 1936 r. Guido Fanconi (1892-1979) zauważył związek między celiakią, zwłóknieniem trzustki i rozstrzeniami oskrzeli (106). Około 30 lat później, Dorothy Hansine Andersen (1901-1963) opisała mukowiscydozę w *American Journal of Diseases of Children* jako osobną jednostkę nozologiczną (107). Była pierwszą osobą, która wysnuła hipotezę, że jest to choroba dziedziczona autosomalnie recesywnie oraz jako pierwsza zastosowała u dzieci leczenie enzymami trzustkowymi. Charakterystycznym zmianom w trzustce nadała nazwę „zwłóknienie torbielowate trzustki” (107). Termin “mukowiscydoza” został zaproponowany po raz pierwszy w 1945 r. przez Sydneya Farbera (1903-1973), który w materiale sekcyjnym 87 dzieci z niewydolnością trzustki zauważył podobne zmiany

patologiczne w innych organach niż trzustka (płuca, górny odcinek przewodu pokarmowego, pęcherzyk żółciowy) (108). W 1952 r. Paul di Sant'Agnese (1914-2005) wykrył nieprawidłowości w równowadze elektrolitowej potu, dzięki temu w ciągu następnej dekady opracowano i udoskonalono test potowy (109). Badania przesiewowe noworodków w kierunku mukowiscydozy (pomiar immunoreaktywnego trypsynogenu) zostały po raz pierwszy wprowadzone w Nowej Zelandii i wybranych regionach Australii w 1981 r. (110). W Polsce pilotażowy program przesiewowy rozpoczął się w 1999 r. i dotyczył czterech województw (111). W kolejnych latach obszar kraju objętego przesiewem stopniowo się zwiększał, a w czerwcu 2009 dotyczył całego kraju (111). Nowe techniki molekularne pozwoliły w 1989 r. zidentyfikować i zsekwencjonować gen leżący u podłoża mukowiscydozy oraz odkryć najczęstszą mutację prowadzącą do rozwoju choroby – F508del (112–114).

1.2.2 Epidemiologia

Mukowiscydoza jest najczęstszą poważną chorobą genetyczną dziedziczną recesywnie, a jej występowanie różni się w zależności od populacji (115). Wyniki badań sprzed 10 lat szacują częstość występowanie mukowiscydozy na poziomie 7,37/100 000 w krajach Unii Europejskiej (najmniejsza na Łotwie (1,04/100 000), a największa w Irlandii (29,80/100 000) (116).

W Polsce, w 2013 r. częstość występowania mukowiscydozy wynosiła ok. 1/4394 (117). W Polskim Rejestrze Chorych na Mukowiscydozę w 2012 r. zarejestrowanych było około 1500 chorych (118). W 2017 r. Polska dołączyła do Europejskiego Rejestru CF (European Cystic Fibrosis Society Patient Registry) (119). Aktualne dane z dziewięciu ośrodków obejmują 721 osób zarejestrowanych (575 dzieci i 146 dorosłych) (szacowane pokrycie >35%).

1.2.3 Etiologia

Dotychczas poznano 2073 mutacje zlokalizowane w genie *CFTR*. Ich specyfika została podsumowana w Tabeli 1.

Tabela 1. Dotychczas poznane mutacje genu CFTR.

Typ mutacji	n	Częstość %
Zmiana sensu	805	38,98
Zmiana ramki odczytu	328	15,88
Splicing	229	11,09
Nonsens	174	8,43
Insercja/delecja w ramce odczytu	43	2,08
Duża insercja/delecja	58	2,81
Mutacja w promotorze	17	0,82
Inny wariant sekwencji	269	13,03
Nieznana	142	6,88

źródło: <http://www.genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>

Najczęściej występującą mutacją jest delecja trzech par nukleotydów w pozycji 508 skutkująca usunięciem fenyloalaniny z sekwencji aminokwasowej białka CFTR (F508del). Występuje ona u 85,8% pacjentów zarejestrowanych w rocznym sprawozdaniu Cystic Fibrosis Foundation (120). Niemal co drugi amerykański pacjent z mukowiscydozą posiada oba allele F508del (45,3%) natomiast 40,9% pacjentów jest heterozygotami F508del (120).

Poznane mutacje zostały pogrupowane w sześć klas, z których trzy pierwsze związane są z ciężkim przebiegiem choroby wynikającym z braku ekspresji białka CFTR, zaburzonym procesem jego dojrzewania oraz zaburzoną regulacją kanału jonowego (np. odpowiednio G542X, ΔF508, G551D) (121). Mutacje w klasach IV-VI skutkują dysfunkcją przewodnictwa kanału chlorkowego, zmniejszoną ilością białka CFTR i dysfunkcjami oddziaływań pomiędzy kanałami chlorkowymi oraz jego obrotu (odpowiednio R117H, A455E, Q1412X) (121). Podział mutacji *CFTR* na klasy jest narzędziem badawczym i nie pozwala przewidzieć konsekwencji klinicznych u poszczególnych pacjentów. Korelacje genotyp-fenotyp w mukowiscydozie mogą być przydatne na poziomie populacji w celu

określenia pewnych powiązań, ale nie powinny być wykorzystywane do wskazywania rokowania u poszczególnych pacjentów. Genotyp najmocniej determinuje występowanie niepłodności męskiej i niewydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki (122).

1.2.4 Leczenie

Leczenie mukowiscydozy opiera się głównie na indywidualnym dopasowaniu postępowania żywieniowego w tym diety hiperkalorycznej, suplementacji enzymów trzustkowych i witamin oraz terapii inhalacyjnej DNA-zą i roztworem soli, antybiotykoterapii i fizjoterapii. Konieczny jest stały monitoring stanu zdrowia obejmujący ocenę rozwoju choroby, regularne pomiary antropometryczne (wysokość i masa ciała), badania bakteriologiczne, diagnozowanie i leczenie chorób współtowarzyszących i powikłań (123). W terapii mukowiscydozy stosowane są również leki rozszerzające oskrzela i przeciwzapalne, a także terapia tlenowa z zastosowaniem koncentratora tlenu (123). W przypadku przewlekłej niewydolności oddechowej i ciężkich zmian oskrzelowo-płucnych może być konieczna transplantacja płuc (123). Dużym osiągnięciem w leczeniu mukowiscydozy stało się wprowadzenie tzw. modulatorów białka CFTR. Leki te mają na celu poprawienie czynności białka CFTR na poziomie molekularnym i znacząco poprawiają zarówno stan kliniczny pacjenta, jak i jakość jego życia. Dotychczas na rynku dostępne były: lumakaftor, zwiększający ilość białek CFTR w błonie komórkowej, iwakaftor, wzmacniający ich działanie, tezakaftor pomagający w transporcie białka na błonę komórkową oraz ich kombinacje (124). Ostatnim, lekiem z tej grupy dopuszczonym na rynku amerykańskim w październiku 2019 r. jest kombinacja modulatorów elexacaftor/ivacaftor/tezacaftor (125,126). Lek jest przeznaczony dla pacjentów powyżej 12 roku życia, z przynajmniej jedną mutacją F508del (126). Z uwagi na cenę, wyżej wymienione leki nie są dostępne w wielu krajach świata, również w Polsce.

1.3 TELOMERY

Materiał genetyczny człowieka i innych organizmów eukariotycznych zawarty jest w cząsteczkach kwasów nukleinowych ciasno upakowanych w struktury zwane chromosomami. Na końcu chromosomu lokalizowany jest telomer – struktura zabezpieczająca koniec DNA przed uszkodzeniem podczas kopiowania. Autosomalny DNA jest liniową cząsteczką dwuniciową (127). Przed każdym podziałem komórki, DNA

musi ulec duplikacji, co wymaga rozdzielenia obu jego nici i wytworzenia identycznej kopii przez polimerazę DNA. Enzym ten wymaga startera do zainicjowania procesu kopiowania, a następnie jedna z nici jest replikowana w sposób ciągły od końca 5' do końca 3' (nić wiodąca), podczas gdy druga nić jest kopiowana w krótkich fragmentach zwanych fragmentami Okazaki. W ten sposób powstają krótkie przerwy, które następnie muszą być wypełnione, aby uzupełnić cząsteczkę DNA. Przerwa na samym końcu nie może być wypełniona, więc nowa nić DNA jest krótsza niż oryginał. W konsekwencji, z każdym podziałem komórek, których może być nawet $\sim 10^{16}$ w ciągu życia, chromosomy ostatecznie tracą znaczną długość (około 20-200 par zasad na cykl) a zjawisko to jest nazywane problemem replikacji końca (128,129). Dzięki serii eksperymentów w modelu *Tetrahymena* (129,130) odkryto, że rozwiązaniem problemu replikacji końca jest enzym – telomeraza, która dodaje powtarzające się sekwencje TTAGGG, które chronią końce DNA przed skracaniem. W ten sposób sekwencja telomerów umożliwia polimerazie DNA kopiowanie krótkich segmentów opóźnionego DNA, a następnie wypełnianie luk i przekazywanie informacji genetycznej nowej nici do komórek potomnych podczas replikacji komórek (130). Telomery zostały po raz pierwszy opisane pod koniec lat 30-tych. XX wieku (131). Jednak dopiero po 70 latach poznano lepiej rzeczywiste mechanizmy ich działania. Rola telomerów została ostatecznie odkryta, co zostało uhonorowane Nagrodą Nobla w dziedzinie fizjologii/medycyny w 2009 r. (129,130,132). Biorąc pod uwagę fakt, że chromosomy skracają się za każdym razem, gdy komórka ulega podziałowi, szybko powstała idea, że skracanie telomerów jest związane ze starzeniem całego organizmu (31,32). Pojęcie to jest jednak znacznie bardziej złożone (133). Skrócenie telomerów odnotowano w różnych chorobach, takich jak zaburzenia układu sercowo-naczyniowego, niedokrwistość aplastyczna, ostre uszkodzenie nerek, nowotwory, przewlekła choroba wątroby i cukrzyca (134–138). Dostępne dane literaturowe wskazują, że długość telomerów może być stosowana jako niezależne i skuteczne narzędzie do przewidywania wyników leczenia, np. w przewlekłej białaczce limfocytowej i nowotworach złośliwych (139–142). Sugerowano, że w przewlekłej białaczce limfocytowej długość telomerów ≤ 5000 pz była niezależnie związana z krótszym przeżyciem wolnym od leczenia i ogólnym przeżyciem (143).

1.4 APOLIPOPROTEINA E

Kluczową rolę w metabolizmie lipoprotein pełnią apolipoproteiny, odpowiadające za wiązanie lipidów. Jedną z nich – apolipoproteina E (ang. apolipoprotein E, APOE) – jest glikoproteiną bogatą w argininę składającą się z 299 aminokwasów (34kDa) (144). Jest produkowana głównie przez wątrobę, ale też makrofagi i adipocyty, a w mniejszym stopniu także inne narządy (mózg, płuca, mięśnie, nerki, śledzionę, nadnercza, jajniki). Gen *APOE* został opisany po raz pierwszy w 1973 r., a jego lokalizacja na chromosomie 19 została poznana w połowie lat 80-tych (144–146). Jego trzy polimorficzne allele $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ i $\epsilon 4$ różnią się między sobą obecnością nukleotydu C lub T w kodonie 112 i 158 (147,148), a w związku z czym tworzą trzy izoformy białek APOE z odmiennymi aminokwasami w tych pozycjach (APOE2, APOE3, APOE4). Izoforma APOE3 zawiera cysteinę i argininę w powyższych pozycjach, natomiast APOE2 zawiera odpowiednio dwie cysteiny, a APOE4 dwie argininy. Wyróżnia się następujące genotypy *APOE*: $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$, $\epsilon 4/\epsilon 4$. W 1993 r. zidentyfikowano najbardziej znany związek genotypów *APOE* z wiekiem rozpoznania choroby Alzheimera i jej przebiegiem (149,150).

Jak już wcześniej wspomniano, allele genu *APOE* kodują trzy izoproteiny różniące się znacząco strukturą i funkcją, np. zdolnością wiązania do receptorów wątroby (151). Izoforma APOE2 jest najbardziej stabilna chemicznie, termicznie i stanowi najrzadszy wariant tego genu. Dowiedziono, że APOE2 ma istotnie mniejsze powinowactwo do receptora LDL w porównaniu z pozostałymi allelami, co powoduje wolniejsze usuwanie cząsteczek LDL z osocza. Homozygotyczność względem *APOE* $\epsilon 2$ jest związana z wyższymi poziomami krążących trójglicerydów i hiperlipoproteinemią typu III. APOE3 jest najczęściej spotykaną izoformą i przypisuje się jej działanie ochronne przed wczesnym rozwojem choroby Alzheimera. Z kolei APOE4 jest najmniej stabilna termicznie i chemicznie. Zamiana cysteiny na argininę w pozycji 112 nie wpływa na powinowactwo do receptora LDL, modyfikuje natomiast konformację łańcucha bocznego Arg61. Izoforma APOE4 jest powszechnie opisywana jako potencjalny czynnik predysponujący do rozwoju miażdżycy, chorób sercowo-naczyniowych i choroby Alzheimera (150,152). Określenie struktury białka o całkowitej długości było niemożliwe ze względu na agregację białka do form o wysokiej masie cząsteczkowej (150). Nawet przy małych stężeniach białko tworzy oligomery, dimery i tetramery przez domenę C-końcową (150).

Oprócz znaczącej roli w metabolizmie lipidów, APOE niewątpliwie ma duże znaczenie w procesach immunologicznych organizmu. Dane literaturowe sugerują jej

związek z chorobami autoimmunologicznymi, takimi jak stwardnienie rozsiane, reumatoidalne zapalenie stawów i łuszczyca (153–155). Wyniki badań wskazują, że APOE hamuje proliferację limfocytów (156–158), aktywuje neutrofile (159), moduluje funkcje makrofagów (160–162), a także bierze udział w prezentacji antygenów (163,164). Dowiedziono że APOE zależnie od izoformy hamuje wytwarzanie cytokin prozapalnych, takich jak TNF- α ($E2 > E3 > E4$) (165). Z kolei cytokiny mogą promować syntezę i uwalnianie APOE lub zmniejszać wytwarzanie APOE w różnych tkankach (166,167). Jednak badania nad interakcjami między APOE i cytokinami dają sprzeczne wyniki, co podkreśla ich złożone role w organizmie (164). Stan zapalny w NZJ znacząco wpływa na profil lipidów, apolipoprotein i lipoprotein u pacjentów z aktywną chorobą (168,169). W oparciu o badanie przeprowadzone wśród pacjentów z Arabii Saudyjskiej wykazano, że *APOE* $\epsilon 2$ oraz *APOE* $\epsilon 4$ występują częściej u pacjentów z NZJ w porównaniu z grupą kontrolną (170). Ponadto *APOE* $\epsilon 4$ związany jest ze wczesnym wystąpieniem objawów choroby. Z kolei częstość występowania *APOE* $\epsilon 3$ u chorych jest mniejsza w porównaniu z grupą kontrolną. Brak jest natomiast jakichkolwiek danych dotyczących wpływu poszczególnych genotypów *APOE* na przebieg procesu chorobowego, zarówno u pacjentów dorosłych, jak i pediatrycznych z NZJ.

1.5 CZĄSTECZKI ROZPOZNAJĄCE WZORCE

Cząsteczki rozpoznające wzorce (ang. pattern recognition molecules, pathogen recognition molecules) to molekuły pełniące ważne funkcje w mechanizmach odporności immunologicznej nieswoistej organizmu. Dowiedziono, że odgrywają rolę w obronie przed patogenami, w regeneracji tkanek i różnicowaniu komórek (171,172). Wśród cząsteczek rozpoznających wzorce można wymienić opsoniny, białko wiążące mannozę, białka surfaktantu A i D oraz białko DMBT1 (ang. deleted in malignant brain tumors 1, SALSA, SAG, gp340).

1.5.1 Białko DMBT1

Białko DMBT1 jest cząsteczką wielofunkcyjną o ważnej roli w odporności wrodzonej, stanie zapalnym, homeostazie nabłonka i mechanizmach supresji guza (173–176). Po raz pierwszy cząsteczka została opisana w 1983 r. jako białko o masie 300-400 kDa

aglutynujące paciorkowce w ślinie, skąd jego pierwotna nazwa – aglutynina ślinowa (ang. salivary agglutinin, SAG) (177). Późniejsze badania niezależnych grup wskazały na lokalizację białka w innych tkankach. W płynie popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych, glikoproteina została oczyszczona wspólnie z białkiem surfaktantu D i nazwano ją gp340 (178). Białko obserwowano też w niektórych guzach mózgu. Jednocześnie stwierdzono, że gen *DMBT1* jest nieobecny w kilku guzach mózgu, dając białku tym samym nową nazwę „usunięty w złośliwych guzach mózgu 1” (*DMBT1*) (172). Obecnie wydaje się, że różne nazwy opisują to samo białko w różnych tkankach. W 2012 r. zaproponowano wspólną nazwę – SALSА (ang. salivary scavenger and agglutinin) (179). Białko SALSА zostało pierwotnie wyizolowane z wydzielin śluzowych. Zatem większość badań skupia się na jego ekspresji na różnych powierzchniach śluzówki. Jednak ostatnie doniesienia wskazują na jego ekspresję również w tkankach innych niż nabłonkowe (176).

Białko *DMBT1* składa się z 13 wysoce konserwatywnych ewolucyjnie domen receptora zmiatacza bogatego w cysteinę (ang. scavenger receptor cysteine-rich, SRCR) połączonych krótkimi segmentami bogatymi w prolinę nazwanymi domenami przeplatającymi SRCR (ang. SRCR interspersed domains, SID). Po domenach SRCR następują dwie domeny CUB (ang. C1r/C1s, urchin embryonic growth factor i bone morphogenetic protein-1) otaczające czternastą domenę SRCR, a na końcu karboksylowym białka znajduje się domena zwana *zona pellucida* (ZP) (180,181). Powtarzające się domeny SRCR są często poddawane alternatywnemu splicingowi, który prowadzi do powstawania izoform o różnej liczbie domen SRCR i domen przeplatających SID (180–182). Zmienność liczby powtórzeń tych domen stwierdza się u do 28% zdrowych osób, jest spowodowana obecnością delecji i polimorfizmów w genie *DMBT1* (183–185). Na poziomie białkowym również obserwuje się zmienną wielkość białek SALSА u różnych ludzi, a nawet w różnych tkankach tej samej osoby (186–188). Wyjaśnienia obserwowanej zmienności upatruje się m.in. w glikozylacji, która odpowiada za powstanie około 25-45% masy cząsteczkowej białka SALSА (177,189).

Główną funkcją białka SALSА jest aglutynacja patogenów. Wykazano, że SALSА wiąże szerokie spektrum bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych (187,190–193), jak również wirusa grypy A i ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) (194,195). Swoiste właściwości wiązania cząsteczki SALSА, które mogą się zmieniać zarówno w zależności od lokalizacji białka, jak i pomiędzy poszczególnymi izo- i glikoformami, mogą w znacznym stopniu wpływać na to, które mikroorganizmy są zdolne

do kolonizacji określonej powierzchni. Różnice w SALSA mogą zatem mieć wpływ na skład lokalnego mikrobiomu i stan środowiska zapalnego. W konsekwencji może to kształtować równowagę immunologiczną na powierzchniach śluzówki. Opisano również szereg interakcji między białkiem SALSA a innymi endogennymi cząsteczkami, takimi jak immunoglobulina klasy A, SP-A, SFTPD, laktoferyna, fibryna/fibrynogen, fibronektyna, mucyna-5B, galektyna-3, naskórkowy czynnik wzrostu (ang. epidermal growth factor, EGF), czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. vascular endothelial growth factor, VEGF), C1q, czy lektyna wiążąca mannozę (ang. mannose-binding lectin, MBL) (178,179,196–203). W wydzielinach ciała stwierdzono, że SALSA oligomeryzuje do większych kompleksów, samodzielnie lub poprzez oddziaływania z wyżej wymienionymi ligandami (174,204–206). Dane literaturowe wskazują na rolę białka w SALSA w regulacji układu dopełniacza (179,196,207,208). Białko SALSA związane z powierzchnią ma właściwości aktywujące układ dopełniacza, natomiast wiązanie się białka SALSA z elementami układu dopełniacza w fazie płynnej może hamować jego działanie (179,209). Sugeruje się, że białko SALSA ma różne mechanizmy działania w infekcji i stanie zapalnym. W połączeniu z SFTPD białko SALSA może łagodzić zbyt zaostroszoną odpowiedź immunologiczną, jednocześnie wzmagając klirens zakażającego wirusa (174,210).

Wyniki badań wskazują, że zwiększona ekspresja SALSA jest częścią normalnej odpowiedzi zapalnej nabłonka, prawdopodobny jest więc udział tego białka w nieswoistych zapaleniach jelit (193,197,211). Wariant genetyczny skutkujący delecją regionu SRCR4-7 może prowadzić do słabszego wiązania bakterii i zmniejszonego ich usuwania, co w konsekwencji może skutkować zwiększonym zapaleniem śluzówki (211,212). Sugerowano, że wariant ten warunkuje podatność na ChLC i może być markerem klinicznym choroby, choć ostatnie badania nie potwierdzają tej zależności (211,212). Zidentyfikowano także polimorfizm pojedynczego nukleotydu rs2981804, który również korelował z rozpoznaniem ChLC (184). Zatem wydaje się, że może istnieć związek między funkcją SALSA a predyspozycją do ChLC.

1.5.2 Białko surfaktantu D

Białko surfaktantu D (ang. surfactant protein D, SP-D, SFTPD) jest glikoproteiną należącą do grupy lektyn zawierających kolagen typu C, inaczej nazywanych kolektydami. Jest

jednym z czterech białek wchodzących w skład surfaktantu płucnego (SP-A, SP-B, SP-C i SP-D). Podobnie jak SP-A, w odróżnieniu do pozostałych dwóch białek surfaktantu płucnego, SFTPD jest białkiem hydrofilnym o dużej masie cząsteczkowej. SFTPD jest głównie produkowane przez komórki pęcherzykowe typu II w płucach i pełni kluczowe funkcje ochronne we wrodzonej odporności płuc. Występowanie SFTPD nie jest ograniczone tylko do płuc, ponieważ białko jest szeroko rozpowszechnione na powierzchniach śluzówkowych różnych tkanek, w tym nabłonków układu oddechowego, pokarmowego, rozrodczego, moczowego, naczyniowego oraz gruczołów (213,214).

Struktura SFTPD należy do złożonych i uporządkowanych struktur trzeciorzędowych. Obejmuje potrójnie spiralny region kolagenowy i C-końcową homotrimeryczną domenę rozpoznawania węglowodanów (ang. carbohydrate recognition domain, CRD) (215). Wysoce konserwatywna domena CRD służy do rozpoznawania wzorców węglowodanów lub ładunków na drobnoustrojach, alergenach i umierających komórkach, podczas gdy region kolagenowy może oddziaływać z cząsteczkami receptora obecnymi na różnych komórkach odpornościowych w celu zainicjowania mechanizmów klirensu. Cztery trimery tworzą charakterystyczny dodekamer (216).

Spośród mono- i disacharydów, SFTPD wiąże preferencyjnie maltozę, glukozę i mannozę, które często są używane w badaniach podstawowych do analizy oddziaływań tego białka z patogenami (217–219). Wykazano, że SFTPD wiąże się nie tylko z bakteriami, ale także wirusem grypy, opryszczki zwykłej, drożdżami, grzybami i endotoksynami (220,221). Ciągła niewielka ekspozycja na patogeny, alergeny i apoptozę może spowodować odpowiedź przeciwzapalną białka SFTPD. Gdy jednak płuca poddane są nadmiernej ekspozycji na egzogene patogeny, SFTPD może działać prozapalnie w celu uzupełnienia wrodzonej i nabytej odporności (215). Działanie prozapalne może być spowodowane też małym stężeniem białka, zmiennością genetyczną, modyfikacjami biochemicznymi i jego rozpadem proteolitycznym (214).

Rola SFTPD w odporności wrodzonej przeciwko mikroorganizmom obejmuje różnorodne mechanizmy działania, takie jak bezpośrednia opsonizacja, neutralizacja, aglutynacja, aktywacja układu dopełniacza i zwiększenie fagocytozy (215). Ponadto, białko SFTPD jest zaangażowane w usuwanie komórek apoptotycznych i nekrotycznych (222) i ma bezpośrednie działanie hamujące wzrost bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych (223–226). Bierze też udział w regulacji stanu zapalnego w zapaleniu płuc (227),

polaryzacji limfocytów Th (228) i hamowaniu peroksydacji lipidów (229). W ten sposób SFTPD wpływa na odpowiedź nabytą i wrodzoną, a tym samym może być ważnym elementem warunkującym homeostazę (230).

Udowodniono, że stężenie SFTPD w surowicy jest większe u pacjentów z proteinozą pęcherzykową, idiopatycznym włóknieniem płuc i w zespole ostrej niewydolności oddechowej dorosłych niż u zdrowych ochotników (231,232). Zasugerowano również, że zmiany poziomów SFTPD w surowicy mogą odzwierciedlać aktywność choroby w idiopatycznym włóknieniu płuc i śródmiąższowym zapaleniu płuc, a także ciężkość przebiegu proteinozy pęcherzyków płucnych (232). Pomiar stężenia SFTPD w surowicy może być nieinwazyjną alternatywą w diagnostyce proteinozy pęcherzykowej.

Jednocześnie prowadzone badania funkcji *SFTPD* w przewodzie pokarmowym wykazały, że *SFTPD* ulega ekspresji w nabłonku jelitowym i pełni kluczową rolę we wrodzonej obronie gospodarza i regulacji odpowiedzi zapalnej (213,214). Dane literaturowe wskazują na związek polimorfizmów *SFTPD* ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na NZJ (233,234). Sugerują również, że może być genem modyfikującym chorobę. Udowodniono, że ekspresja białka SFTPD w nabłonku okrężnicy pacjentów z NZJ silnie koreluje z aktywnością zapalną ($R^2 = 0,78$, $p < 0,0001$; CHLC ($R^2 = 0.92$) i UC ($R^2 = 0.78$))(235), co ciekawe, nie obserwowano tak silnej zależności w modelu mysim (235).

2 CELE

Celem pracy była ocena związku wybranych markerów molekularnych z ekspresją kliniczną i ciężkością przebiegu nieswoistych zapaleń jelit i mukowiscydozy.

Cel ten realizowany był poprzez:

1/ analizę związku polimorfizmów *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna z:

a/ ekspresją kliniczną choroby,

b/ stosowanym leczeniem,

c/ liczbą zaostrzeń, liczbą hospitalizacji i dni hospitalizacji, a także liczbą ciężkich rzutów,

d/ subiektywnym odczuciem bólu, niepokoju i ograniczenia w aktywności społecznej.

2/ analizę związku względnej długości telomerów u pacjentów z mukowiscydozą z:

a/ ekspresją kliniczną choroby,

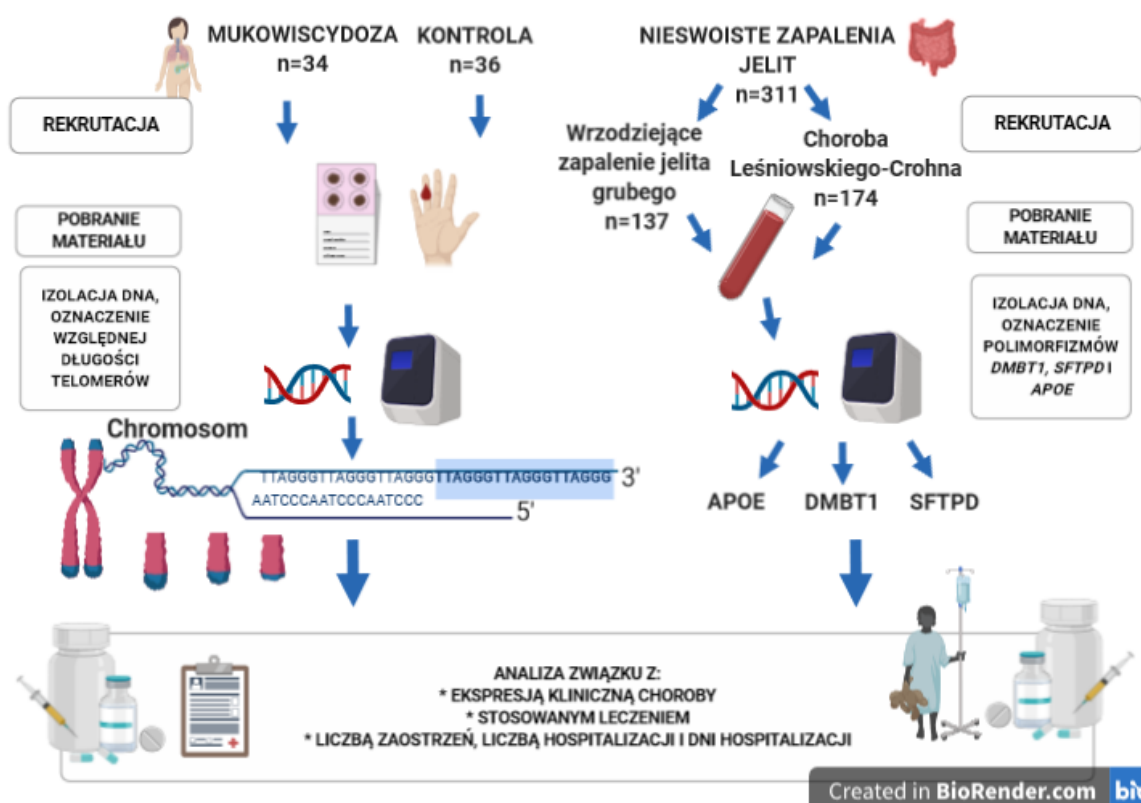
b/ stosowanym leczeniem,

c/ liczbą zaostrzeń, liczbą hospitalizacji i dni hospitalizacji.

3 PACJENCI I METODY

3.1. SCHEMAT PRACY

Założenia pracy zostały przedstawione na Schemacie 1.



źródło: <https://biorender.com>

Schemat 1. Graficzne podsumowanie celów i metod podjętych w pracy.

3.2. PACJENCI

3.2.1. Badanie dotyczące polimorfizmów w nieswoistych zapaleniach jelit

Badanie polimorfizmów w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit zostało przeprowadzone w latach 2015-2019. Pacjenci byli rekrutowani w trakcie hospitalizacji w następujących ośrodkach:

- Klinice Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych I Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
- Klinice Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie,
- II Katedrze i Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia, Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,
- Katedrze i Klinice Pediatrii w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach,
- Klinice Gastroenterologii i Żywienia Dzieci, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Kryterium włączenia obejmowało:

- wiek 3-18 lat.

Kryteria wyłączenia obejmowały:

- stan zagrożenia życia,
- ciężki stan ogólny.

Badaniem objęto 311 pacjentów chorych na NZJ (kobiety n = 137, mężczyźni = 174). Wśród badanych były 174 osoby z ChLC i 137 osób z WZJG [sic.].

3.2.2. Badanie dotyczące względnej długości telomerów w mukowiscydozie

Badanie względnej długości telomerów w mukowiscydozie zostały przeprowadzone w latach 2017-2019. Pacjenci byli rekrutowani w trakcie wizyt kontrolnych w następujących ośrodkach leczenia mukowiscydozy:

- Klinice Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych I Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
- Poradni Leczenia Mukowiscydozy, w Specjalistycznym Zespole Opieki Zdrowotnej nad Matką i Dzieckiem w Gdańsku.

Zdrowi ochotnicy stanowiący kontrolę do badania zostali zrekrutowani w trakcie wizyt kontrolnych w poradni Zespół Lekarza Rodzinnego "Promyk" w Poznaniu.

Rozpoznanie mukowiscydozy zostało postawione według obowiązujących kryteriów na podstawie objawów klinicznych, wywiadu oraz wysokich stężeń anionów chlorkowych w

pocie uzyskanych za pomocą jonoforezy pilokarpinowej [104, 131]. Potwierdzenie rozpoznania uzyskano w badaniu genetycznym wykrywającym mutacje w genie *CFTR*, wykonanym w ośrodkach diagnostyki molekularnej.

Kryteria włączenia dla pacjentów i kontroli obejmowały:

- wiek 5-10 lat,
- wiek ciążowy ≥ 36 tygodni,
- masę urodzeniową $> 2500\text{g}$.

Kryteria wyłączenia dla pacjentów i zdrowych ochotników obejmowały:

- wady wrodzone,
- istotne komplikacje okołoporodowe,
- ostre infekcje w miesiącu poprzedzającym badanie (biegunka, infekcje dróg oddechowych).

Kryteria wyłączenia dla zdrowych ochotników obejmowały:

- wrodzone zaburzenia metaboliczne,
- przewlekłe choroby układowe (cukrzyca, choroba nerek, nadciśnienie, nieswoiste zapalenie jelit),
- standaryzowane wartości wysokości ciała, masy ciała i BMI poniżej 5. i powyżej 95. centyla.

Kryterium wyłączenia dla pacjentów z mukowiscydozą obejmowały:

- zaostrzenie oskrzelowo-płucne,
- $\text{FEV1} < 40\%$
- inne wrodzone zaburzenia metaboliczne,
- przewlekłe choroby układowe niezwiązane z mukowiscydozą.

Badaniem objęto 34 pacjentów z mukowiscydozą (dziewczynki $n=15$, chłopcy $n= 19$) i 36 zdrowych osób z grupy kontrolnej (dziewczynki $n=14$, chłopcy $n=22$).

3.3. METODY BADAŃ

3.3.1. Badanie dotyczące polimorfizmów w nieswoistych zapaleniach jelit

Ekspresja kliniczna nieswoistych zapaleń jelit

Lokalizacja

Lokalizację zmian zapalnych u pacjentów z NZJ opisano przy pomocy Klasyfikacji Paryskiej (Tabela 2. i Tabela 3.) (237), zarówno w momencie rozpoznania, jak i w czasie najcięższego rzutu.

Tabela 2. Klasyfikacja Paryska dla choroby Crohna.

Wiek rozpoznania	A1a – poniżej 9 roku życia A1b – 10-16 rok życia A2 – 17-40 rok życia
Lokalizacja	L1 – ograniczenie zmian do 1/3 dystalnej części jelita krętego z niewielkim zajęciem kątnicy lub bez jej zajęcia L2 – obecność zmian w okrężnicy – od odbytu do kątnicy L3 – zajęcie jelita grubego z obecnością zmian w dystalnym odcinku jelita krętego L4a – izolowanie zajęcia górnego odcinka przewodu pokarmowego do więzadła Treitza L4b – zajęcie jelita cienkiego między więzadłem Treitza proksymalnie a 1/3 dystalną częścią jelita krętego
Charakter choroby	B1 – zapalny – przy braku zwężeń i przetok B2 – zwężający – ze zwężeniem światła jelita stwierdzanym w badaniu radiologicznym lub endoskopowym B3 – penetrujący – z obecnością przetok bądź ropni obserwowanych w badaniu radiologicznym, endoskopowym lub w trakcie zabiegu chirurgicznego B2B3 – obecność zwężeń i przetok, równocześnie lub niezależnie od siebie p – zmiany okołoodbytowe
Wzrost	G0 – brak objawów zaburzenia wzrostu G1 – zaburzenia wzrostu

Tabela 3. Klasyfikacja Paryska dla wrzodziejącego zapalenia jelita grubego.

Rozległość	<p>E1 – proctitis ulcerosa – zmiany ograniczone do odbytnicy nie przekraczające zagięcia esiczo-prostniczego</p> <p>E2 – lewostronne WZJG zmiany położone dystalnie do zagięcia śledzionowego</p> <p>E3 – rozległe WZJG zmiany położone dystalnie do zagięcia wątrobowego</p> <p>E4 – pancolitis (proksymalnie do zgięcia wątrobowego)</p>
Stopień nasilenia	<p>S0 – nigdy ciężki*</p> <p>S1 – kiedykolwiek ciężki*</p> <p>*Ciężki = PUCAI \geq 65 (opisano poniżej)</p>

Ocena stanu zapalnego

Stan zapalny oceniono przy pomocy stężenia białka C-reaktywnego w surowicy (CRP) [mg/l] (norma: <5 mg/l). Informacje zebrano na podstawie dokumentacji medycznej.

Wskaźniki aktywności choroby

Wskaźniki aktywności ChLC obliczano według indeksu PCDAI (ang.: Pediatric Crohn's Disease Activity Index) (Tabela 4.)

Tabela 4. Skala aktywności choroby PCDAI (ang.: Peadiatric Crohn's Disease Activity Index) w modyfikacji Ryzki i Woynarowskiego (238,239).

Domena	Objawy	Punkty
Ostatnie 7 dni	Bóle brzucha	
	Brak	0
	Słabe	5
	Silne	10
	Stolce	
	< 2 bez krwi	0
	2-5 luźne/krew	5
	>5 lub znaczne krwawienie	10
	Samopoczucie	
Dobre	0	
Nieco gorsze	5	
Złe	10	
Parametry laboratoryjne	Stężenie Hb (g/dl)	
	>12	0
	10-12	2,5
	<10	5
	Odczyn Biernackiego [mm/h]	
	<20	0
	20-50	2,5
	>50	5
	Albuminy [g/dl]	
>3,5	0	
3,1-3,5	5	
<3,1	10	
Badanie przedmiotowe	Wskaźnik Cole'a	
	>85	0
	80-85	5
	<85	10
	Badanie palpacyjne brzucha:	
	Bez tkliwości i oporu	0
	Nieznaczna/guz	5
	Wyraźna/i guz	10
	Zmiany okołodbytnicze:	
	Brak	0
	Niewielkie, bez bolesności	5
	Przetoki, bolesność lub ropień	10
Objawy pozajelitowe:		
Brak	0	
Jeden z objawów	5	
Dwa lub więcej	10	

Ocena aktywności:

brak aktywności klinicznej choroby: 0–10 punktów

aktualnie łagodna postać choroby 11–27,5 punktów

aktualnie umiarkowana postać choroby 30–50 punktów

aktualnie ciężka postać choroby > 50 punktów

Aktywność WZJG obliczano na podstawie skali PUCAI (ang. Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index) (Tabela 5.)

Tabela 5. Skala aktywności choroby PUCAI (ang. Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index).

Objawy	Punkty
Ból brzucha:	
Brak	0
Ból, który może być ignorowany	5
Ból, który nie może być ignorowany	10
Krwawienie z odbytnicy:	
Brak	0
Niewiele krwi w mniej niż połowie stolców	10
Niewiele krwi w więcej niż połowie stolców	20
Dużo krwi w więcej niż połowie stolców	30
Konsystencja stolców:	
Uformowany	0
Częściowo uformowany	5
Nieufornowany	10
Liczba stolców:	
0–2	0
3–5	5
6–8	10
Powyżej 8	15
Nocne stolce (jakikolwiek epizod budzący w nocy):	
Nie	0
Tak	10
Aktywność życia:	
Bez ograniczeń	0
Sporadyczne ograniczenia	5
Poważne ograniczenia	10
Masa ciała:	
Stabilna, prawidłowy przyrost	0
Niestabilna, spadek 1–9%	5
Spadek masy ciała > 10%	10

Ocena aktywności:

brak aktywności klinicznej choroby: < 10 punktów

aktualnie łagodna postać choroby 10–34 punktów

aktualnie umiarkowana postać choroby 35–64 punktów

aktualnie ciężka postać choroby > 65 punktów

Współwystępowanie innych chorób oraz objawów pozajelitowych

Dane dotyczące występowania innych chorób oraz objawów pozajelitowych pochodziły z dokumentacji medycznej.

Stosowane leczenie

Dane kliniczne obejmujące dotychczas stosowane leczenie pochodziły z historii medycznej pacjentów i obejmowały:

- stosowanie glikokortykosteroidów systemowych,
- liczbę kursów glikokortykosteroidów systemowych,
- stosowanie leków immunosupresyjnych, z datą pierwszej podaży leku,
- leczenie biologiczne, z datą rozpoczęcia leczenia biologicznego,
- leczenie chirurgiczne, z datą pierwszej interwencji chirurgicznej.

Ocena ciężkości przebiegu nieswoistych zapaleń jelit

W celu określenia ciężkości przebiegu choroby określono liczbę:

- hospitalizacji z powodu zaostrzenia,
- dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia,
- zaostrzeń od chwili rozpoznania,
- ciężkich rzutów od chwili rozpoznania.

Ocena subiektywnych doznań psychofizycznych w trakcie przebiegu choroby przewlekłej

Ocena subiektywnych doznań psychofizycznych u pacjentów z NZJ dotyczyła trzech znaczących domen: subiektywnego odczucia bólu, subiektywnego odczucia niepokoju oraz ograniczenia aktywności społecznej zmierzonych w odniesieniu do trzech punktów czasowych: w momencie rozpoznania choroby, w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości i aktualnie (Aneks). Pacjenci odpowiadali zaznaczając swoje odczucia na skali 10-stopniowej (gdzie 0 – brak bólu/lęku/wpływu na aktywność społeczną, 10 – miały maksymalny ból/lęk/wpływ na aktywność społeczną). W przypadku pacjentów poniżej 12 roku życia dopuszczono pomoc rodziców lub opiekunów.

Izolacja materiału genetycznego

Materiał od pacjentów w postaci krwi żyłnej pobranej na kwas wersenowy (ang. ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) przechowywany był w temperaturze -20°C. Izolację materiału genetycznego przeprowadzano metodą izolacji kolumnkowej (BloodMini, A&A Biotechnology, Polska). Analizę ilościową i jakościową DNA przeprowadzano spektrofotometrycznie (NanoDrop, Thermo Scientific NanoDrop Technologies, Wilmington, Delaware, USA). Pomiar przeprowadzono przy długościach fali 260 i 280 nm, które stanowią maksimum absorpcji odpowiednio dla DNA i białek.

Genotypowanie

W badaniu analizowano polimorfizmy genów *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* (Tabela 6.). Wybrane polimorfizmy oznaczono przy użyciu zestawu sond hybrydacyjnych i starterów TaqMan SNP Genotyping Assay (Life Technologies Corp. Carlsbad, California, USA) oraz mieszaniny reakcyjnej TaqPath ProAmp (Thermo Fisher Scientific, USA). Do rozróżnienia poszczególnych alleli w danej próbce DNA wykorzystano znakowanie sond barwnikami fluorescencyjnymi VIC i FAM. Amplifikację prowadzono z użyciem termocyklera CFX-96 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) według protokołu: 60°C przez 30 sekund, 95°C przez 5 minut a następnie 40 powtórzeń 95°C przez 15 sekund i 60°C przez 1 minutę. Końcowym etapem była inkubacja w 60°C przez 30 sekund. Wykres dyskryminacji alleli uzyskano dzięki oprogramowaniu CFX Manager software (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

Tabela 6. Wykaz analizowanych polimorfizmów (SNP).

<i>Gen</i>	SNP	Rodzaj mutacji i lokalizacja		Allele	Symbol
Białko					
<i>APOE</i>	rs7412	missens, 4 ekson	Chromosom 19	C/T	C_904973_10
APOE	rs429358	missens, 4 ekson		C/T	C_3084793_20
<i>DMBT1</i>	rs2981745	wariant w 5'UTR	Chromosom 10	C/T	C_347798_10
DMBT1	rs2981804	wariant w intronie		A/G	C_2804156_10
<i>SFTPD</i>	rs2243639	missens, ekson 5	Chromosom 10	C/T	C_26726205_10
SFTPD					

3.3.2. Badanie dotyczące względnej długości telomerów w mukowiscydozie

Ekspresja kliniczna mukowiscydozy

U wszystkich pacjentów dokonano oceny ekspresji klinicznej choroby na podstawie:

- funkcji płuc,
- funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki,
- kolonizacji *Pseudomonas aeruginosa*,
- stężenia chlorków w pocie [mmol/l] w na pierwszej wizycie skringowej w Klinice oraz wiek wykonania próby potowej.

Ponadto określono występowanie:

- choroby wątroby związanej z mukowiscydoza lub marskości wątroby,
- cukrzycy,
- polipów nosowych,
- przewlekłego zapalenia zatok,
- choroby refluksowej przełyku,
- niedrożności smółkowej,
- innych chorób związanych i niezwiązanych z CF.

Ocenę funkcji płuc przeprowadzono na podstawie wyników badań spirometrycznych wykonywanych w roku pobrania w Pracowniach Diagnostyki Czynnościowej Płuc w ośrodkach rekrutujących w okresie pobierania krwi. W analizie użyto odsetek przewidywanej natężonej objętości wydechowej powietrza w czasie 1 sekundy po maksymalnym wdechu (ang. forced expiratory volume in 1 second, FEV1).

Ocenę funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki dokonano na podstawie stężenia enzymu trzustkowego elastazy-1 w stolcu. Do pomiaru elastazy-1 wykorzystano metodę immunoenzymatyczną (ELISA, firmy ScheBo Biotech, Giessen, Niemcy) (240,241).

Dane na temat kolonizacji *Pseudomonas aeruginosa* (dodatni wynik posiewu płwociny) uzyskano w trakcie wcześniejszego postępowania diagnostycznego. Informacje o stężeniu chlorków w pocie [mmol/l] podczas skringu noworodkowego, występowania choroby wątroby związanej z mukowiscydozą, marskości wątroby, cukrzycy, polipów nosowych, przewlekłego zapalenia zatok, choroby refluksowej przełyku, niedrożności smółkowej, stosowanego leczenia oraz występowania innych chorób pochodziły z dokumentacji medycznej. Genotyp uzyskano w badaniu molekularnym genu *CFTR* wykonanym w ośrodkach diagnostyki molekularnej mukowiscydozy (Genomed S. A.).

Ocena ciężkości przebiegu mukowiscydozy

W celu oceny ciężkości przebiegu choroby zebrano informacje dotyczące liczby:

- zaostrzeń choroby oskrzelowo-płucnej,
- hospitalizacji jednodniowych od urodzenia do pobrania krwi,
- hospitalizacji wielodniowych od urodzenia do pobrania krwi,
- dni hospitalizacji wielodniowych od urodzenia do pobrania krwi.

Informacje uzyskano z dokumentacji medycznej.

Izolacja materiału genetycznego

Materiał od pacjentów i zdrowych ochotników w postaci kropli krwi włośniczkowej z palca został pobrany na bibuły skriningowe (Eastern Business Forms INC, Greenville, USA). Bibuły następnie suszono w temperaturze pokojowej, z dala od promieni słonecznych przez 4-16 godzin. Następnie bibuły przechowywano w temperaturze pokojowej do czasu izolacji.

Suche plamy krwi o wymiarach około 7×7 mm wycięte przy pomocy skalpela były następnie izolowane metodą izolacji kolumnkowej (NucleoSpin, Macherey-Nagel, Düren, Niemcy). Stężenie DNA oceniano dwukrotnie: metodą qPCR z użyciem krzywej rozcieńczeń seryjnych i spektrofotometrycznie (NanoDrop, Thermo Scientific NanoDrop Technologies, Wilmington, Delaware, USA).

Analiza względnej długości telomerów

Względną długość telomerów określono za pomocą metody ilościowej łańcuchowej reakcji polimeryzacji (qPCR) ustalonej przez Cawthona i wsp. (242). Do reakcji użyto uprzednio zaprojektowane startery (Tabela 7.). Jako genu referencyjnego o pojedynczej kopii użyto gen *HBB* kodujący β-globinę.

Tabela 7. Startery użyte w reakcji określającej względną długość telomerów.

telg	ACACTAAGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTAGTGT
telc	TGTTAGGTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTAACA
hbgu	CGGCGGCGGGCGGCGGGCTGGGCGGCTTCATCCACGTTACCTTG
hbgd	GCCCCGCCCGCCGCGCCCGTCCCGCCGGAGGAGAAGTCTGCCGTT

Reakcje amplifikacji sekwencji telomerów przebiegały z następującym profilem termicznym: 95°C przez 10 minut, 15 sekund w 95°C (2 powtórzenia), a następnie 15 sekund w 45°C; 40 cykli: 15 sekund w 95°C, 15 sekund w 60°C, 1 minuta w 70°C a następnie akwizycja sygnału. Krzywa topnienia w celu weryfikacji produktu PCR obejmowała 15 sekund w temperaturze 95°C oraz 71 cykli o wzrastającej temperaturze o 0,5°C (60-95°C). Reakcje amplifikacji dla pojedynczej kopii genu przebiegały z następującym profilem termicznym: 95°C przez 10 minut, 55 cykli: 15 sekund w 95°C, 1 minuta w 60°C z akwizycją sygnału. Krzywa topnienia rozpoczynała się 15 sekundami w 95°C, a następnie zwiększono temperaturę o 0,5°C (60-95°C) w celu weryfikacji produktu PCR. W każdej reakcji obliczano jej wydajność.

Aby odzwierciedlić naturę analizowanego DNA, próbka DNA stanowiąca standard dla krzywej rozcieńczeń składała się z DNA wyekstrahowanego z pełnej krwi, jak również DNA wyekstrahowanego z próbek krwi pobranych na bibułę (243). Do każdego pomiaru wykorzystywano dwukrotne seryjne rozcieńczenie 6-punktowej krzywej standardowej (zakres 25,0-0,8 ng/μl). Krzywa standardowa była przygotowywana dla każdej analizowanej płytki. Każdy punkt krzywej standardowej był analizowany w trzech powtórzeniach, podobnie jak próbki od pacjentów. W celu ograniczenia błędu w skrajnych dołkach płytki nie używano ich podczas pomiaru (244). Wszystkie pomiary zostały wykonane przez jednego operatora w celu zmniejszenia błędu pipetowania. Długość produktu PCR sprawdzono metodą elektroforezy w żelu agarozowym.

Standaryzowaną względną długość telomerów obliczono przy pomocy wzoru:

$$Z_{\text{score}} = (x - x_{\text{sr}}) / SD$$

gdzie:

Z_{score} – wynik standaryzowany,

SD – odchylenie standardowe normy

x – pomiar uzyskany u badanego,

(uzyskane w grupie kontrolnej zdrowych

x_{sr} – średnia normy (uzyskana w grupie kontrolnej zdrowych ochotników)

ochotników)

Elektroforeza agarozowa DNA

Agarozę w ilości 5,6 g (Agarose, LE, Analytical Grade, Promega) rozpuszczano w 160 ml buforu TBE 1x stężonego (89 mM Tris-boran i 2 mM EDTA, pH 8.3) do uzyskania stężenia

3,5%. Przygotowaną agarozę podgrzewano do rozpuszczenia, a po ostudzeniu, dodawano 5 μ l odczynnika SimplySafe (EurX, Gdańsk, Polska) lub 3 μ l bromku etydy. Żel przenoszono do aparatu do elektroforezy (Thermo Fisher EasyCast B2Mini Gel Electrophoresis Systems). Rozdział próbek prowadzono w 1x stężonym buforze TBE (Sigma Aldrich, Saint Louis, USA) rozcieńczonym za pomocą wody demineralizowanej (0,05 μ S/cm (25 °C)), przy napięciu prądu 110 V. Próby obciążano odczynnikami Blue/Orange Loading Dye (Promega). Analizę długości prążków na żelu umożliwiał wzorzec długości DNA (FastRuler Ultra Low Range DNA Ladder, Thermo Scientific). Wizualizacje żeli przeprowadzono z wykorzystaniem systemu Kodak GelLogic 200 Imaging System (Hyland Scientific, Stanwood, USA).

3.3.3. Stan odżywienia uczestników badań

Stan odżywienia pacjentów i ochotników został oceniony na podstawie pomiarów antropometrycznych:

- wysokości ciała [cm],
- masy ciała [kg],
- wskaźnika masy ciała (*ang. body mass index*, BMI)[kg/m²].

w odniesieniu do norm populacyjnych (236). Wartości standaryzowane wysokości ciała, masy ciała i BMI (*ang. z-score*) otrzymano korzystając z następującego wzoru:

$$Z_{score} = (x - x_{\text{śr}}) / SD$$

gdzie:

Z_{score} – wynik standaryzowany,	SD – odchylenie standardowe normy
x – pomiar uzyskany u badanego,	(uzyskane w grupie odpowiadającej pod
$x_{\text{śr}}$ – średnia normy (uzyskana w grupie	względem wieku i płci badanemu
odpowiadającej pod względem wieku i	dziecku)
płci badanemu dziecku),	

W badaniu polimorfizmów w NZJ stan odżywienia dodatkowo został oceniony przy pomocy stężenia albumin w osoczu [g/dl] (norma: 3,5-5,0 g/dl).

3.3.4. Analiza statystyczna

W badaniu związku między polimorfizmami a ciężkością przebiegu NZJ przyjęto, że różnice obserwowane pomiędzy genotypami wynoszą ok. 20% (SD=50%, współczynnik

alokacji=1,5), stąd otrzymano liczebność próby 208 osób ($\alpha = 0,05$; $\beta = 0,2$). W celu oceny związku wybranych polimorfizmów z parametrami o charakterze porządkowym zastosowano nieparametryczną analizę wariancji testem Kruskala-Wallisa. Do analizy statystycznej uzyskanych wyników badań zastosowano także test nieparametryczny dla zmiennych niepowiązanych – dwustronny test Fishera. Nie uwzględniano obserwacji, jeżeli liczność próbki była mniejsza niż 10. Wnioski obejmują wyniki o istotności statystycznej $p < 0,01$.

W badaniu względnej długości telomerów w mukowiscydozie wielkość próby została obliczona na podstawie względnej długości telomerów obserwowanych u pacjentów z innymi ciężkimi chorobami oraz osób zdrowych. Do obliczeń przyjęto, że różnice względnej długości telomerów obserwowane pomiędzy pacjentami a zdrowymi osobami są większe niż 20% (SD=25%), stąd otrzymano liczbę 25 osób w każdej grupie ($\alpha=0,05$, $\beta=0,2$). Charakter rozkładu wartości oceniano za pomocą testu Shapiro-Wilka. Różnice między średnimi zmiennych z rozkładem normalnym były testowane za pomocą testu t-Studenta, w przeciwnym razie weryfikowano różnicę median za pomocą testu U Manna-Whitneya. Różnice wariancji zmiennych między dwiema grupami (płeć, choroba) zbadano za pomocą testu Fishera-Snedecora. Różnice wariancji zmiennych między grupami wiekowymi testowano za pomocą testu Levene'a i testu Turkey'a, a także testu Fishera-Snedecora. Zmienne katagoryczne porównano dwustronnym testem Fishera. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,05$. Do obliczeń statystycznych wykorzystano oprogramowanie STATISTICA 13.1 (TIBCO, Palo Alto, USA) i GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, USA).

3.3.5. Zagadnienia etyczne

Protokół badania dotyczącego polimorfizmów w nieswoistych zapaleniach jelit otrzymał zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (zgoda 960/15 ze zmianami 796/16 i 1222/16). Protokół badania względnej długości telomerów w mukowiscydozie został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu (zgoda 692/17, ze zmianami 199/18 i 713/18). Otrzymano świadomą pisemną zgodę na badanie od rodziców każdego pacjenta.

4. WYNIKI

4.1. BADANIE DOTYCZĄCE POLIMORFIZMÓW W NIESWOISTYCH ZAPALENIACH JELIT

4.1.1. Charakterystyka badanej grupy

Badanie obejmowało 311 pacjentów chorych na NZJ (kobiety n = 137, mężczyźni = 174) (Tabela 8.). Wśród badanych były 174 osoby z ChLC i 137 osób z WZJG [sic.]. Średnia wieku rozpoznania choroby wynosiła 11 lat (SD=4 lata) (Tabela 8.). Średni czas trwania choroby u wszystkich pacjentów wynosił 3 lata, natomiast u połowy pacjentów czas trwania choroby mieścił się w zakresie 1-4 lat. Najcięższy rzut choroby określono u 269 pacjentów i przypadał on na około 13 rok życia. (Tabela 9.)

Tabela 8. Charakterystyka epidemiologiczna pacjentów w momencie włączenia do badania.

	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego-Crohna
Liczebność (%)	n=311	n=137 (44.1)	n=174 (55.9)
Płeć			
Mężczyźni	174	71	103
Kobiety	137	66	71
Mężczyźni:kobiety	1.27:1	1.08:1	1.45:1
wiek, [lata]			
$x_{sr} \pm SD$	14,3 \pm 3,2	13,8 \pm 3,6	14,7 \pm 2,8
Mediana (1-3 kwartyl)	15,0 (12,6-16,8)	14,8 (11,8-16,7)	15,0 (13,2-17,0)

Tabela 9. Dane epidemiologiczne dotyczące wieku rozpoznania, czasu trwania choroby i wieku najcięższego rzutu u pacjentów z NZJ.

Parametr X _{sr} ± SD Mediana (1-3 kwartył)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego- Crohna	Wartość p
Wiek rozpoznania [lata]	n=311 WZJG=137 ChLC=174	11,3±4,1 12,0 (8,7-14,3)	10,8±4,4 11,5 (7,3-14,5)	11,7±3,7 12,3 (9,9-14,2)	0,1508
Czas trwania choroby [lata]	n=311 WZJG=137 ChLC=174	3,0±2,8 2,3 (0,9-4,2)	3,0±2,9 2,3 (0,8-4,2)	3,0±2,8 2,3 (1,0-4,2)	0,5607
Wiek w chwili najcięższego rzutu [lata]	n=269 WZJG=120 ChLC=149	12,9±3,6 13,5 (10,8-15,7)	12,2±4,1 13,2 (10,0-15,6)	13,4±3,1 13,6 (11,6-15,7)	0,0917

Wiek rozpoznania, czas trwania choroby i wiek w chwili najcięższego rzutu nie różniły się istotnie statystycznie między WZJG i ChLC.

4.1.2. Stan odżywienia uczestników badania

Wysokość i masa ciała oraz wskaźnik masy ciała (ang. body mass index, BMI) pacjentów z WZJG i ChLC nie różniły się istotnie statystycznie, zarówno w momencie rozpoznania, jak i w najcięższym rzucie (Tabela 10.). Standaryzowane wartości wysokości ciała, masy ciała i BMI [z score] różniły się istotnie statystycznie między pacjentami z WZJG a ChLC (Tabela 10.).

Tabela 10. Parametry antropometryczne uczestników badania chorych na nieswoiste zapalenia jelit.

Parametr Mediana (1-3 kwartyl)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego- Crohna	Wartość p
Masa ciała przy rozpoznaniu [kg]	n=294 WZJG=127 CHLC=167	38,8±16,5 37,3 (26,6-51,0)	38,5±17,1 37,2 (23,5-52,0)	39,1±16,0 38,0 (27,2-49,0)	0,7570
Masa ciała w najgorszym rzucie [kg]	n=257 WZJG=113 ChLC=144	43,3±16,2 43,0 (30,4-53,5)	43,5±17,6 45,5 (30,0-55,7)	43,2±15,1 42,0 (30,7-52,4)	0,7816
Wysokość ciała przy rozpoznaniu [cm]	n=290 WZJG=123 ChLC=167	146,2±24,4 150,0 (133,0-164,4)	144,8±26,7 150,0 (128,0-166,0)	147,2±22,6 150,0 (137,0-163,0)	0,7320
Wysokość ciała w najcięższym rzucie [cm]	n=258 WZJG=112 ChLC=146	152,8±21,2 157,0 (142,0-168,0)	151,2±24,5 158,0 (139,3-171,0)	154,0±18,2 156,5 (145,0-167,0)	0,9987
BMI przy rozpoznaniu [kg/m ²]	n=255 WZJG=123 ChLC=167	25,6±7,7 25,1 (19,3-31,0)	25,5±7,6 25,3 (18,9-31,4)	25,7±7,8 24,8 (19,3-30,5)	0,9830
BMI w najcięższym rzucie [kg/m ²]	n=255 WZJG=110 ChLC=145	27,5±8,0 27,1 (21,4-32,2)	27,7±8,3 28,1 (21,3-33,2)	27,3±7,8 26,5 (22,0-31,6)	0,6614
Masa ciała przy rozpoznaniu [z score]	n=294 WZJG=127 ChLC=167	-0,49±1,13 -0,60 ([-1,25]-0,07)	-0,33±1,02 -0,41 ([-1,04]-0,17)	-0,61±1,20 -0,75 ([-1,39]-[-0,04])	0,0075
Wysokość ciała przy rozpoznaniu [z score]	n=290 WZJG=123 ChLC=167	-0,24±1,21 -0,21 ([-1,10]-0,51)	-0,01±1,15 0,03 ([-0,76]-0,71)	-0,40±1,23 -0,40 ([-1,38]-0,42)	0,0039
BMI przy rozpoznaniu [z score]	n=290 WZJG=123 ChLC=167	-0,51±1,08 -0,62 ([-1,17]-0,07)	-0,42±0,92 -0,48 ([-0,92]-0,11)	-0,57±1,18 -0,75 ([-1,37]-0,07)	0,0351
Masa ciała w najgorszym rzucie [z score]	n=256 WZJG=112 ChLC=144	-0,54±1,17 -0,68 ([-1,28]-0,00)	-0,28±1,05 -0,54 ([-0,91]-0,21)	-0,73±1,22 -0,85 ([-1,47]-[-0,21])	0,0003

Wysokość ciała w najgorszym rzucie [z score]	n=257 WZJG=111 ChLC=146	-0,31±1,15 -0,31 ([-1,09]-0,42)	0,02±1,02 -0,08 ([-0,62]-0,65)	-0,57±1,19 -0,48 ([-1,33]-0,23)	0,0001
BMI w najgorszym rzucie [z score]	n=253 WZJG=109 ChLC=144	-0,50±1,19 -0,72 ([-1,29]-0,08)	-0,35±1,11 -0,65 ([-1,00]-0,08)	-0,62±1,23 -0,82 ([-1,42]-0,06)	0,0224
Δ* masa ciała [z score]	n=168 WZJG=73 ChLC=95	-0,09±0,73 -0,10 ([-0,49]-0,26)	-0,11±0,83 -0,17 ([-0,56]-0,17)	-0,09±0,65 -0,07 ([-0,45]-0,31)	0,4091
Δ* wysokość ciała [z score]	n=168 WZJG=71 ChLC=97	-0,10±0,76 -0,12 ([-0,48]-0,16)	-0,03±0,73 -0,13 ([-0,42]-0,16)	-0,14±0,78 -0,07 ([-0,56]-0,14)	0,6577
Δ* BMI [z score]	n=167 WZJG=71 ChLC=96	-0,05±0,77 -0,07 ([-0,43]-0,28)	-0,06±0,84 -0,07 ([-0,51]-0,31)	-0,04±0,71 -0,07 ([-0,40]-0,23)	0,6469

*Δ – różnica między wartością z momentu najcięższego rzutu a wartością z momentu rozpoznania

Pacjenci z ChLC prezentowali niższe poziomy albumin niż pacjenci z WZJG (Tabela 11).

Tabela 11. Stężenie albumin u pacjentów w badanych grupach.

Parametr Xśr ± SD Mediana (1-3 kwartyl)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego- Crohna	Wartość p
Albuminy w momencie rozpoznania [g/dl]	n=261 WZJG=110 ChLC=151	3,95±0,59 4,00 (3,60-4,40)	4,07±0,59 4,16 (3,70-4,49)	3,86±0,58 3,87 (3,52-4,30)	0,0028
Albuminy w momencie najgorszego rzutu [g/dl]	n=243 WZJG=99 ChLC=144	3,96±0,561 4,00 (3,60-3,60)	4,07±0,540 4,19 (3,79-4,42)	3,88±0,565 3,90 (3,50-4,30)	0,0051

4.1.3. Ekspresja kliniczna nieswoistych zapaleń jelit

Lokalizacja

Tabela 12. Lokalizacja i charakter choroby Leśniowskiego-Crohna wg Klasyfikacji Paryskiej w momencie rozpoznania choroby.

Klasyfikacja paryska w momencie rozpoznania		Liczebność (%)
A – wiek w momencie rozpoznania n=311	A1a: 0–9 lat	98 (31,5)
	A1b: 10–16 lat	200 (64,3)
	A2: 17–40 lat	13 (4,2)
L – Lokalizacja n=194	L1	40 (20,6)
	L2	35 (18,0)
	L3	88 (45,4)
	L4a	23 (11,9)
	L4b	8 (4,1)
B – Charakter n=158	B1	127 (80,4)
	B2	12 (7,6)
	B3	17 (10,7)
	B2B3	2 (1,3)
G – wzrost n=156	0	127 (81,4)
	1	29 (18,6)

Tabela 13. Lokalizacja i charakter choroby Leśniowskiego-Crohna wg Klasyfikacji Paryskiej w momencie najgorszego rzutu choroby.

Klasyfikacja paryska w momencie najgorszego rzutu		Liczebność (%)
A – wiek w momencie najcięższego rzutu n=249	A1a: 0–9 lat	49 (19,7)
	A1b: 10–16 lat	200 (80,3)
	A2: 17–40 lat	0 (0)
L – Lokalizacja n=161	L1	29 (18,0)
	L2	22 (13,7)
	L3	82 (50,9)
	L4a	19 (11,8)
	L4b	9 (5,6)
B – Charakter n=135	B1	98 (72,6)
	B2	16 (11,9)
	B3	18 (13,3)
	B2B3	3 (2,2)
G – wzrost n=135	0	106 (78,5)
	1	29 (21,5)

Tabela 14. Lokalizacja i charakter wrzodziejącego zapalenia jelita grubego wg Klasyfikacji Paryskiej w momencie rozpoznania choroby.

Klasyfikacja Paryska w momencie rozpoznania		Liczebność (%)
E n=135	E1	15 (11,1)
	E2	28 (20,7)
	E3	25 (18,5)
	E4	67 (49,7)
S n=122	S0	89 (73,0)
	S1	33 (27,0)

Tabela 15. Lokalizacja i charakter wrzodziejącego zapalenia jelita grubego wg Klasyfikacji Paryskiej w momencie najgorszego rzutu choroby.

Klasyfikacja Paryska w momencie najgorszego rzutu		Liczebność (%)
E n=104	E1	7 (6,7)
	E2	22 (21,2)
	E3	18 (17,3)
	E4	57 (54,8)
S n=104	S0	58 (55,8)
	S1	46 (44,2)

Ocena stanu zapalnego

Pacjenci z WZJG prezentowali znacząco mniejsze wartości stężeń CRP niż pacjenci z ChLC, zarówno w momencie rozpoznania jak i najcięższego rzutu (Tabela 16.).

Tabela 16. Stężenie białka C-reaktywnego (CRP) u pacjentów w badanych grupach.

Parametr Xśr ± SD Mediana (1-3 kwartyl)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego- Crohna	Wartość p
CRP w momencie rozpoznania [mg/l]	n=264 WZJG=110 ChLC=154	16,7±26,9 6,7 (1,4-20,2)	8,5±14,9 2,3 (0,7-10,9)	22,6±31,7 13,3 (2,5-28,5)	<0,0001
CRP w momencie najgorszego rzutu [mg/l]	n=235 WZJG=96 ChLC=139	20,7±33,4 7,1 (1,9-25,0)	13,8±26,9 3,4 (1,1-13,9)	25,4±36,5 14,4 (3,0-31,3)	<0,0001

Wskaźniki aktywności choroby

Na podstawie dokumentacji medycznej określono wskaźnik aktywności ChLC dla 88,5% pacjentów z w momencie rozpoznania i 78,2% w momencie najcięższego rzutu. Podobnie w przypadku chorych na WZJG wskaźnik określono u 87,6% pacjentów w momencie rozpoznania i 78,8% w momencie najcięższego rzutu (Tabela 17.).

Tabela 17. Wskaźniki aktywności choroby u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w momencie rozpoznania i w momencie najcięższego rzutu.

Wskaźnik aktywności choroby Xśr ± SD Mediana (1-3 kwartyl)	W momencie rozpoznania	W momencie najcięższego rzutu
PCDAI	ChLC =154 34±15 34 (23-50)	ChLC =136 42±16 48 (30-54)
PUCAI	WZJG=120 43±19 45 (28-60)	WZJG=108 52±20 50 (35-70)

Współwystępowanie innych chorób oraz objawów pozajelitowych

Wśród objawów pozajelitowych najczęściej stwierdzano objawy dotyczące stawów, skóry, pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych (ang. primary sclerosing cholangitis, PSC) i alergię (w tym wziewne i pokarmowe) (Tabela 18.). Do częstych chorób współwystępujących z NZJ należały: celiakia (n=11), astma oskrzelowa (n=11), otyłość (n=4), choroba refluksowa przełyku (n=3), padaczka (n=3), niedoczynność tarczycy (n=3).

Tabela 18. Najczęściej prezentowane objawy pozajelitowe w badanych grupach pacjentów.

Objawy pozajelitowe n (%)	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego n=137	Choroba Leśniowskiego-Crohna n=174	Wartość p
Alergia	20 (14,6)	28 (16,1)	0,7540
Objawy stawowe	12 (8,8)	26 (14,9)	0,1172
PSC	10 (7,3)	0 (0,0)	0,0002
Objawy skórne	9 (6,6)	29 (16,7)	0,1229

Stosowane leczenie

Do najczęściej stosowanych form leczenia należały: glikokortykosteroidoterapia systemowa (62,7%), leczenie immunosupresyjne (74,0%) oraz leczenie biologiczne (41,8%). Odnotowano różnice w częstości stosowania wszystkich badanych grup leków między pacjentami z WZJG a ChLC (Tabela 19.). Pacjenci z ChLC częściej otrzymywali leczenie immunosupresyjne (w postaci preparatów azatiopryny i metotreksatu) oraz biologiczne (w tym infliksimab), natomiast większa liczba pacjentów z WZJG była leczona preparatami cyklosporyny i glikokortykosteroidów (w tym prednizonem) (Tabela 18.). Średnia liczba kursów leczenia glikokortykosteroidami dla pacjentów z WZJG wynosiła 1,75 (SD=1,61), a dla pacjentów z ChLC 1,31 (SD=1,30). Mediany liczby kursów w obu grupach różniły się statystycznie istotnie (WZJG 1 (1-2) vs. ChLC 1 (0-2), p=0,0163).

Tabela 19. Stosowane leczenie u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Stosowane leczenie n (%)	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego n=137	Choroba Leśniowskiego- Crohna n=174	Wartość p
Glikokortykosteroidoterapia systemowa	100 (73,0)	95 (54,6)	0,0009
Metyloprednizolon	30 (21,9)	31 (17,8)	0,3906
Prednizon	71 (51,8)	68 (39,1)	0,0291
Hydrokortyzon	5 (3,6)	4 (2,3)	0,5141
Leczenie immunosupresyjne	87 (63,5)	143 (82,2)	0,0003
Azatiopryna	82 (59,9)	138 (79,3)	0,0003
Metotreksat	3 (2,2)	16 (9,2)	0,0150
6-merkaptopuryna	4 (2,9)	2 (1,1)	0,4108
Cyklosporyna	20 (14,6)	6 (3,4)	0,0007
Mykofenolan mofetylu	0 (0,0)	2 (1,1)	0,5055
Takrolimus	0 (0,0)	1 (0,6)	1,0000
Sulfasalazyna	0 (0,0)	1 (0,6)	1,0000
Leczenie biologiczne	35 (25,5)	95 (54,6)	<0,0001
Infliksimab	33 (24,1)	92 (52,9)	<0,0001
Adalimumab	9 (6,6)	12 (6,9)	1,0000
Golimumab	2 (1,5)	0 (0,0)	0,1933
Vedolizumab	2 (1,5)	0 (0)	0,1933

Średni wiek włączenia immunosupresji u pacjentów z WZJG i ChLC nie różnił się (Tabela 20.), natomiast w przypadku terapii biologicznej pacjenci z WZJG byli znacząco młodsi od pacjentów z ChLC w momencie włączenia tej formy leczenia (Tabela 20.)

Tabela 20. Wiek włączenia leczenia immunosupresyjnego i biologicznego w badanych grupach pacjentów.

Wiek włączenia leczenia [lata] Xśr ± SD Mediana (1-3 kwartyl)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego-Crohna	Wartość p
Immunosupresja	n=227 WZJG=85 ChLC=142	11,5±4,0 12,4 (9,2-14,3)	10,8±4,5 11,5 (8,0-14,5)	12,0±3,7 12,6 (10,0-14,3)	0,1532
Terapia biologiczna	n=126 WZJG=34 ChLC=92	12,6±3,7 13,5 (10,7-15,3)	10,9±4,7 11,6 (6,3-15,0)	13,2±3,1 13,7 (11,0-15,4)	0,0277

Czas od rozpoznania do włączenia leczenia immunosupresyjnego oraz biologicznego nie różnił się dla chorych z WZJG i ChLC (Tabela 21.).

Tabela 21. Czas od rozpoznania choroby do włączenia leczenia immunosupresyjnego i biologicznego w badanych grupach pacjentów.

Czas od rozpoznania do włączenia leczenia [miesiące] Xśr ± SD Mediana (1-3 kwartyl)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego-Crohna	Wartość p
Immunosupresja	n=227 WZJG=85 ChLC=142	7,5±14,8 2,0 (0,0-8,2)	8,0±15,9 2,4 (0,0-9,2)	7,3±14,8 1,0 (0,0-7,0)	0,3108
Terapia biologiczna	n=126 WZJG=34 ChLC=92	21,3±24,0 13,6 (5,6-26,9)	19,2±20,0 12,6 (7,2-26,9)	22,1±25,4 14,1 (4,5-28,0)	0,9343

U 9,6% pacjentów z NZJ stosowano również leczenie chirurgiczne (Tabela 22.). Pacjenci z ChLC częściej przechodzili interwencje chirurgiczne w tym zabieg resekcji.

Tabela 22. Stosowane leczenie chirurgiczne u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Interwencje chirurgiczne n (%)	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego n=137	Choroba Leśniowskiego- Crohna n=174	Wartość p
Interwencje chirurgiczne ogółem	3 (2,2)	27 (15,5)	0,0001
Kolektomia	3 (2,2)	4 (2,3)	0,6978
Resekcja	0 (0,0)	12 (6,9)	0,0030
Chirurgia przetoki	0 (0,0)	3 (1,7)	0,2582
Zabieg po perforacji	0 (0,0)	3 (1,7)	0,2582
Chirurgia ropnia	0 (0,0)	5 (2,9)	0,0694

Średni wiek interwencji oraz czas od rozpoznania do pierwszej interwencji chirurgicznej nie różnił się dla chorych z WZJG i ChLC (Tabela 23.)

Tabela 23. Charakterystyka interwencji chirurgicznych u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Parametr X \bar{s} \pm SD Mediana (1-3 kwartył)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego- Crohna	Wartość p
Wiek w chwili 1. interwencji chirurgicznej [lata]	n=32 WZJG=6 ChLC=26	13,2 \pm 3,3 14,2 (11,3-15,6)	10,9 \pm 4,6 10,0 (6,8-15,6)	13,7 \pm 2,8 14,4 (13,1-15,6)	0,2368
Czas trwania choroby do 1. interwencji chirurgicznej [miesiące]	n=28 WZJG=4 ChLC=24	25,2 \pm 25,8 19,9 (2,9-39,8)	20,9 \pm 15,8 22,7 (8,8-33,0)	25,9 \pm 27,3 17,6 (2,5-42,1)	0,9737
Czas od rozpoznania do kolektomii [miesiące]	n=7 WZJG=3 ChLC=4	23,5 \pm 16,6 28,7 (5,0-41,1)	15,4 \pm 13,9 16,7 (0,9-28,7)	29,6 \pm 17,5 35,1 (17,1-42,1)	0,2159
Wiek w chwili kolektomii [lata]	n=7 WZJG=3 ChLC=4	13,0 \pm 4,9 14,8 (6,8-16,9)	13,2 \pm 5,6 15,6 (6,8-17,1)	12,8 \pm 5,3 14,6 (9,8-15,9)	0,5959
Czas od rozpoznania do resekcji [miesiące]	ChLC=10			31,0 \pm 31,6 31,0 (11,6-56,8)	
Wiek w chwili resekcji [lata]	ChLC=10			13,4 \pm 1,9 13,9 (13,3-14,7)	

4.1.4. Ocena ciężkości przebiegu nieswoistych zapaleń jelit

Na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej wykazano, że parametry takie jak liczba hospitalizacji, dni hospitalizacji, zaostrzeń oraz ciężkich rzutów nie różnią się w zależności od jednostki chorobowej (Tabela 24.).

Tabela 24. Wybrane parametry określające ciężkość przebiegu nieswoistych zapaleń jelit u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Liczba $X_{sr} \pm SD$ Mediana (1-3 kwartył)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego- Crohna	Wartość p
Hospitalizacje z powodu zaostrzenia	n=267 WZJG=117 ChLC=150	2,2±2,3 1,0 (1,0-3,0)	2,4±2,3 2,0 (1,0-3,0)	2,0±2,3 1,0 (1,0-2,0)	0,0692
Hospitalizacje z powodu zaostrzenia/rok	n=198 WZJG=83 ChLC=116	0,8±0,8 0,7 (0,3-1,6)	1,0±0,9 0,7 (0,3-1,3)	0,7±0,7 0,5 (0,2-0,8)	0,1419
Dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia	n=262 WZJG=115 ChLC=147	20,4±31,7 12,0 (5,0-27,0)	20,3±23,4 13,0 (4,0-30,0)	20,5±37,0 11,0 (6,0-21,0)	0,7440
Dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok	n=198 WZJG=83 ChLC=115	6,6±7,4 4,6 (1,5-7,8)	7,8±8,3 5,3 (1,7-9,7)	5,7±6,5 4,3 (1,4-7,1)	0,3963
Zaostrzenia od chwili rozpoznania	n=260 WZJG=114 ChLC=146	2,3±2,6 2,0 (1,0-3,0)	2,6±2,9 2,0 (1,0-3,0)	2,0±2,2 1,0 (1,0-2,0)	0,1855
Zaostrzenia od chwili rozpoznania/rok	n=198 WZJG=83 ChLC=115	0,8±0,9 0,6 (0,3-1,0)	1,0±1,2 0,7 (0,3-1,2)	0,6±0,6 0,5 (0,2-0,9)	0,1852
Ciężkie rzuty od rozpoznania	n=252 WZJG=111 ChLC=141	0,9±1,0 1,0 (0,0-1,0)	0,8±1,0 1,0 (0,0-1,0)	1,0±1,0 1,0 (0,0-1,0)	0,1132
Ciężkie rzuty od rozpoznania/rok	n=195 WZJG=83 ChLC=112	0,3±0,4 0,2 (0,0-0,5)	0,3±0,4 0,1 (0,0-0,5)	0,3±0,4 0,2 (0,0-0,5)	0,4910

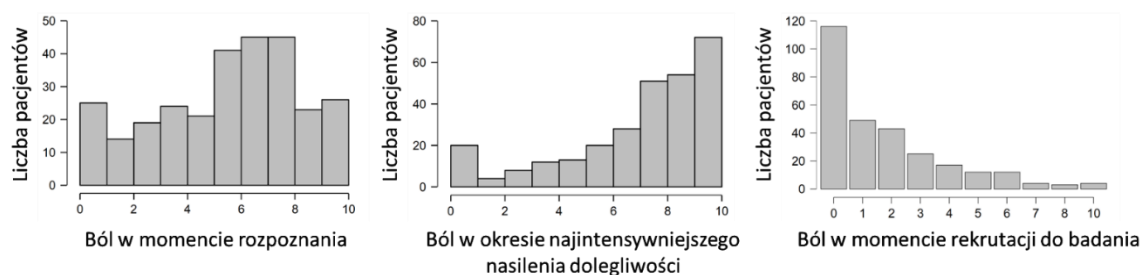
4.1.5. Ocena subiektywnych doznań psychofizycznych w trakcie przebiegu choroby przewlekłej

Subiektywne odczucie bólu nie różniło się znacząco wśród pacjentów z WZJG i ChLC na żadnym etapie oceny (moment rozpoznania, najintensywniejsze nasilenie objawów i włączenie do badania) (Tabela 25.). Subiektywne odczucie lęku związanego z chorobą i leczeniem w momencie rozpoznania oraz w okresie najintensywniejszego nasilenia objawów było także zbliżone, zaobserwowano natomiast różnicę w odczuwaniu lęku związanego z chorobą w momencie włączenia do badania (odczucie lęku większe dla WZJG). W momencie rozpoznania choroby ograniczenia wynikające z choroby w aktywności społecznej i uczestnictwie w zajęciach szkolnych nie różniły się pomiędzy grupami. Pacjenci z WZJG bardziej odczuwali ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych od pacjentów z ChLC w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości. Aktualna ocena ograniczeń w kontaktach towarzyskich i uczestnictwie w zajęciach szkolnych była statystycznie różna w obu jednostkach chorobowych na niekorzyść WZJG. Ogólna sumaryczna ocena doznań psychofizycznych różni się w obu grupach pacjentów. Osoby z WZJG osiągały wyższą punktację podsumowując wszystkie badane aspekty. Rozkład odpowiedzi w ankiecie subiektywnych doznań psychofizycznych przedstawiono za pomocą histogramów (Ryc. 1-4.).

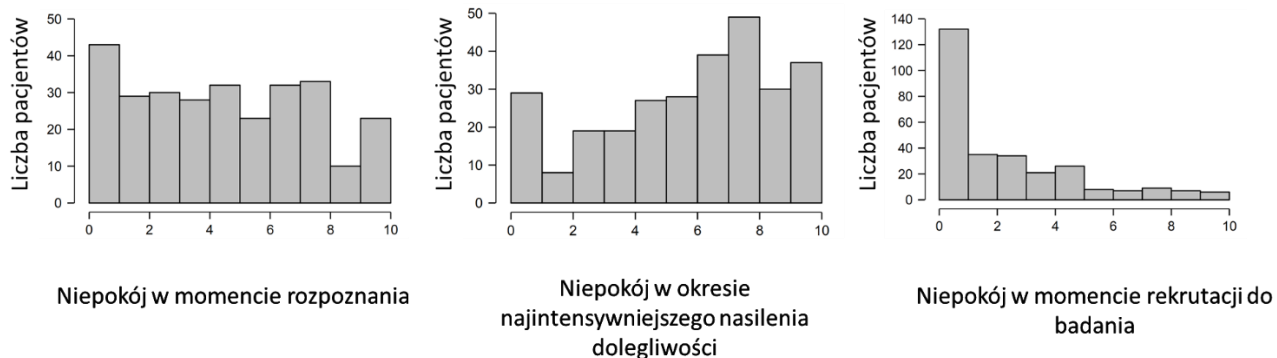
Tabela 25. Subiektywne doznania psychofizyczne u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Subiektywne doznania psychofizyczne Moda Mediana (1-3 kwartył)	n	Razem	Wrzodziejące zapalenie jelita grubego	Choroba Leśniowskiego-Crohna	Wartość P
Subiektywne odczucie bólu w momencie rozpoznania	n=287 WZJG=129 ChLC=158	7 6 (4-8)	7 6 (4-8)	8 7 (4-8)	0,4729
Subiektywne odczucie bólu w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	n=285 WZJG=130 ChLC=155	10 8 (6-10)	10 8 (6-10)	10 8 (6-10)	0,5633
Aktualne, subiektywne odczucie bólu	n=288 WZJG=130 ChLC=158	0 1 (0-3)	0 1 (0-3)	0 1 (0-2)	0,1720
Subiektywne odczucie niepokoju (lęku) związanego z chorobą i leczeniem w momencie rozpoznania choroby	n=286 WZJG=129 ChLC=157	5 5 (2-7)	5 5 (3-8)	8 5 (2-7)	0,2227
Subiektywne odczucie niepokoju (lęku) związanego z chorobą i leczeniem w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	n=288 WZJG=130 ChLC=158	8 7 (4-8)	8 7 (5-9)	8 6,5 (4-8)	0,1117
Aktualne, subiektywne odczucie niepokoju (lęku) związanego z chorobą i leczeniem	n=288 WZJG=130 ChLC=158	0 2 (1-4)	0 2 (1-5)	0 1,5 (0-3)	0,0486
Ograniczenie kontaktów towarzyskich w momencie rozpoznania choroby	n=287 WZJG=130 ChLC=157	0 3 (0-6)	0 3,5 (0-7)	0 3 (0-6)	0,3406
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych/przedszkolnych w momencie rozpoznania choroby	n=285 WZJG=128 ChLC=157	0 4 (2-8)	0 4 (2-8,5)	0 5 (2-8)	0,6543

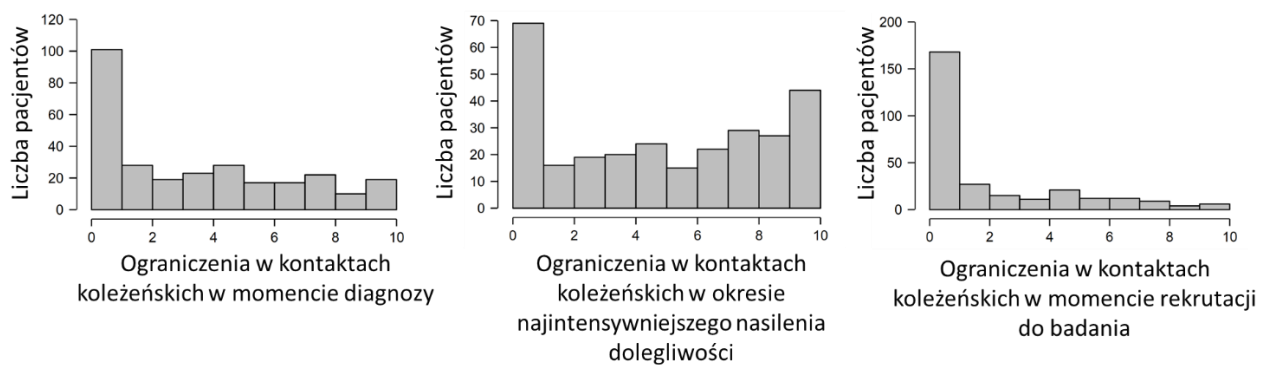
Ograniczenie kontaktów towarzyskich w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	n=288 WZJG=130 ChLC=158	0 5 (2-8,5)	0 5,5 (2-9)	0 5 (1-8)	0,3947
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych/przedszkolnych w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	n=287 WZJG=129 ChLC=158	10 8 (3-10)	10 8 (4-10)	10 7 (3-9)	0,0333
Aktualne ograniczenie kontaktów towarzyskich	n=288 WZJG=130 ChLC=158	0 1 (0-4)	0 1 (0-5)	0 0 (0-3)	0,0040
Aktualne ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych/przedszkolnych	n=286 WZJG=129 ChLC=157	0 2 (0-5)	0 2 (0-6)	0 1 (0-3)	0,0078
SUMA	n=289 WZJG=130 ChLC=159	51 54 (38-68)	67 57,5 (39-74)	56 52 (37-65)	0,0429



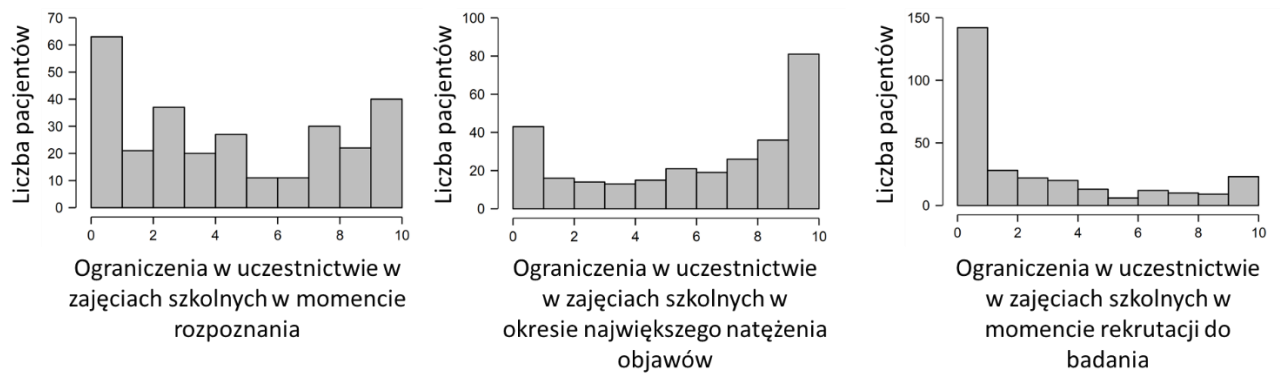
Ryc. 1. Subiektywne odczucie bólu u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit uczestniczących w badaniu (0 – brak bólu, 10 – niewyobrażalny ból).



Ryc. 2. Subiektywne odczucie niepokoju u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit uczestniczących w badaniu (0 – brak niepokoju, 10 – niewyobrażalny lęk).



Ryc. 3. Subiektywne odczucie ograniczenia kontaktów koleżeńskich pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit uczestniczących w badaniu (0 – nie miały wpływu, 10 – miały maksymalny wpływ).



Ryc. 4. Subiektywne odczucie ograniczenia uczestnictwa w zajęciach szkolnych/przedszkolnych u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit (0 – nie miały wpływu, 10 – miały maksymalny wpływ).

4.1.6. Genotypowanie

Analizy molekularne wykonano u 311 pacjentów.

Apolipoproteina E

Częstość występowania badanych genotypów i alleli nie różniła się między pacjentami z WZJG i ChLC (Tabela 26.). Najczęstszym genotypem występującym u pacjentów był genotyp $\epsilon 3/\epsilon 3$. Genotypy $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 2$ oraz $\epsilon 4/\epsilon 4$ stwierdzono jedynie w pojedynczych przypadkach (Tabela 27.).

Tabela 26. Częstość występowania genotypów i alleli *APOE* u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG) i chorobą Leśniowskiego-Crohna (ChLC).

Genotyp/ Allel n(%)	NZJ n= 311	WZJG n = 137	ChLC n = 174	Wartość <i>p</i>		Iloraz szans (95% przedział ufności)
				Chi2	Dwustronny test Fishera	
ε3/ε3	192 (61,7)	83 (60,6)	109 (62,6)	0,71	0,40	0,92 (0,58-1,45)
ε3/ε4	69 (22,2)	35 (25,5)	34 (19,5)	0,21	0,13	1,41 (0,83-2,42)
ε2/ε3	41 (13,2)	13 (9,5)	28 (16,1)	0,09	0,06	0,55 (0,27-1,10)
ε3+	302 (97,1)	131 (95,6)	171 (98,3)	0,17	0,15	0,38 (0,09-1,56)
ε4+	76 (24,4)	40 (29,2)	36 (20,7)	0,08	0,06	1,58 (0,94-2,66)
ε2+	46 (14,8)	16 (11,7)	30 (17,2)	0,17	0,11	0,64 (0,33-1,22)

Nie stwierdzono różnic w częstości występowania poszczególnych genotypów i alleli *APOE* między kobietami i mężczyznami biorącymi udział w badaniu (Tabela 27).

Tabela 27. Częstości występowania genotypów i alleli *APOE* w zależności od płci.

Genotyp/allel n (%)	Mężczyźni n = 174	Kobiety n = 137	Wartość p		Iloraz szans (95% przedział ufności)
			Chi2	Dwustronny test Fishera	
ε3/ε4	42 (24,1)	27 (19,7)	0,35	0,21	0,77 (0,45-1,33)
ε2/ε3	24 (13,8)	17 (12,4)	0,72	0,43	0,89 (0,46-1,72)
ε3/ε3	102 (58,6)	90 (65,7)	0,20	0,12	1,35 (0,85-2,15)
ε2/ε4	0 (0,0)	3 (2,2)	0,12	0,17	
ε4/ε4	2 (1,1)	2 (1,5)	0,81	0,59	1,27 (0,18-9,16)
ε2/ε2	1 (0,6)	1 (0,7)	0,87	0,69	1,27 (0,08-20,52)
ε3+	168 (96,6)	134 (97,8)	0,51	0,38	1,60 (0,39-6,50)
ε4+	47 (27,0)	29 (21,1)	0,23	0,15	0,73 (0,43-1,23)
ε2+	28 (16,1)	18 (13,1)	0,47	0,15	0,73 (0,42-1,50)

Łącząc dostępne dane piśmiennicze (Tabela 28.) w grupie o podobnej liczebności (n=307) (245,246), częstość występowania genotypu ε3/ε3 była mniejsza u pacjentów z NZJ w porównaniu do osób zdrowych (61,7% vs 70,0%; p=0,297; OR = 0,69; 95% CI 0,49-0,97). Jednocześnie, częstość występowania genotypu ε3/ε4 w grupie NZJ w porównaniu z grupą kontrolną była większa (22,0% vs. 16,0%; p=0,0490; OR 1,50; 95% CI 1,00-2,25).

Tabela 287. Dostępne dane literaturowe określające częstość występowania genotypów *APOE* w populacji polskiej.

n (%)	Liczebność grupy (n)	$\epsilon 2\epsilon 2$	$\epsilon 2\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 4$	$\epsilon 4\epsilon 4$	$\epsilon 2\epsilon 4$
Wyniki własne	NZJ (311)	2 (0,6)	41 (13,2)	192 (61,7)	69 (22,2)	4 (1,3)	3 (1,0)
Kowalska i wsp. (245)	Zdrowi dorośli (137)	0 (0,0)	11 (8,0)	100 (73,0)	19 (13,9)	3 (2,2)	4 (2,9)
Bednarska-Makaruk i wsp. (246)	Zdrowi dorośli (170)	2 (1,2)	18 (10,6)	115 (67,6)	30 (17,6)	1 (0,6)	4 (2,4)
Jasieńska i wsp. (247)	Zdrowe kobiety (118)	0 (0,0)	10 (8,5)	89 (75,4)	15 (12,7)	3 (2,5)	1 (0,8)
Bojar i wsp. (248)	Zdrowe kobiety (402)		63 (15,7)	253 (62,9)	86 (21,4)		

Dodając do uzyskanej grupy kontrolnej dodatkową grupę 118 kobiet (247) można zaobserwować utrzymywanie się odnotowanej różnicy (genotyp $\epsilon 3/\epsilon 3$ $p=0,0051$; genotyp $\epsilon 3/\epsilon 4$ $p=0,0131$). Z uwagi na niepełne dane z pozostałych źródeł piśmienniczych dalsze zwiększenie liczby osób w grupie kontrolnej w celu weryfikacji tej różnicy jest potencjalnie obciążone błędem.

Białko DMBT1

Najczęstszym genotypem dla polimorfizmu *DMBT1* rs2981804 był AG. Jednocześnie, nie zaobserwowano różnic w dystrybucji genotypów między obiema jednostkami chorobowymi (Tabela 29.)

Tabela 298. Częstość występowania genotypów polimorfizmów *DMBT1* (rs2981804, rs2981745) u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Genotyp n (%)	WZJG n=137	ChLC n=174	Wartość p	Iloraz szans (95% przedział ufności)
rs2981804				
AA	40 (29,2)	60 (34,5)	0,3311	0,78 (0,48-1,27)
AG	72 (52,6)	80 (46,0)	0,2558	1,30 (0,83-2,04)
GG	25 (18,2)	34 (19,5)	0,8843	0,92 (0,52-1,63)
rs2981745				
TT	9 (6,6)	16 (9,2)	0,5294	0,69 (0,30-1,62)
CT	65 (47,4)	71 (40,8)	0,2516	1,31 (0,83-2,06)
CC	63 (46,0)	87 (50,0)	0,4950	0,85 (0,54-1,33)

Nie zaobserwowano także różnic w częstości występowania genotypów polimorfizmów *DMBT1* między kobietami i mężczyznami (Tabela 30.).

Tabela 30. Częstość występowania genotypów badanych polimorfizmów *DMBT1* (rs2981804, rs2981745) w zależności od płci.

Genotyp n (%)	Kobiety n=137	Mężczyźni n=174	Wartość p	Iloraz szans (95% przedział ufności)
rs2981804				
AA	42 (30,7)	58 (33,3)	0,6271	0,88 (0,55-1,43)
AG	72 (52,5)	80 (46,0)	0,2558	1,30 (0,80-2,00)
GG	23 (16,8)	36 (20,7)	0,4666	0,77 (0,43-1,38)
rs2981745				
TT	8 (5,8)	17 (9,8)	0,2935	0,57 (0,24-1,37)
CT	67 (48,9)	69 (39,6)	0,1084	1,46 (0,93-2,29)
CC	62 (45,3)	88 (50,6)	0,3628	0,81 (0,52-1,27)

Białko surfaktantu D

W przypadku polimorfizmu *SFTPD* najczęściej występował genotyp CT. Jednocześnie nie stwierdzono różnic w częstości występowania genotypów w zależności od jednostki chorobowej oraz płci (Tabela 31. i 32.).

Tabela 31. Częstość występowania genotypów polimorfizmu *SFTPD* (rs2243639) u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna.

Genotyp n (%)	WZJG n=137	ChLC n=174	Wartość <i>p</i>	Iloraz szans (95% przedział ufności)
rs2243639				
TT	20 (14,6)	30 (17,2)	0,6412	0,82 (0,44-1,52)
CT	72 (52,6)	85 (48,9)	0,5682	1,16 (0,74-1,82)
CC	45 (32,8)	59 (33,9)	0,9038	0,95 (0,59-1,53)

Tabela 32. Częstość występowania genotypów polimorfizmu *SFTPD* (rs2243639) w zależności od płci.

Genotyp n (%)	Kobiety n=137	Mężczyźni n=174	Wartość <i>p</i>	Iloraz szans (95% przedział ufności)
rs2243639				
TT	23 (16,8)	27 (15,5)	0,7588	1,10 (0,60-2,02)
CT	62 (45,2)	95 (54,6)	0,1107	0,69 (0,44-1,08)
CC	52 (38,0)	52 (29,9)	0,1473	1,43 (0,89-2,31)

4.1.7. Analiza związku badanych polimorfizmów z ekspresją kliniczną choroby

Analiza związku badanych polimorfizmów z wiekiem postawienia diagnozy i najcięższego rzutu.

Nie wykazano występowania różnic wieku rozpoznania NZJ dla poszczególnych genotypów polimorfizmów *APOE*, *DMBT1* i *SFTPD* (Tabela 33.). Podobnie, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wieku rozpoznania wśród pacjentów z ChLC i WZJG zależnie od genotypu (dla *DMBT1* rs2981804 odpowiednio $p=0,3154$ i $p=0,9219$; dla *DMBT1* rs2981745 odpowiednio $p=0,5306$ i $p=0,9608$; dla *SFTPD* odpowiednio $p=0,2366$ i $p=0,3207$).

Nie stwierdzono różnic w wieku postawienia diagnozy a badanymi allelami wybranych polimorfizmów (zarówno w modelu recesywnym jak i dominującym) wśród wszystkich badanych pacjentów, także w grupach pacjentów z ChLC i WZJG.

Nie wykazano występowania różnic wieku wystąpienia najcięższego rzutu choroby dla poszczególnych genotypów polimorfizmów *APOE*, *DMBT1* i *SFTPD* (Tabela 33.). Podobnie, nie stwierdzono różnic wieku wystąpienia najcięższego rzutu choroby zależnie od genotypu dla pacjentów z ChLC i WZJG (dla *APOE* odpowiednio $p=0,2674$ i $p=0,4422$; dla *DMBT1* rs2981804 odpowiednio $p=0,7621$ i $p=0,6609$; dla *DMBT1* rs2981745 odpowiednio $p=0,5488$ i $p=0,8252$; dla *SFTPD* odpowiednio $p=0,5572$ i $p=0,8827$).

Nie stwierdzono różnic w wieku wystąpienia najcięższego rzutu zależnie od badanych alleli badanych polimorfizmów wśród wszystkich badanych pacjentów, a także w grupach pacjentów z ChLC i WZJG.

Tabela 33. Wiek w momencie postawienia rozpoznania i najcięższego rzutu choroby zależnie od genotypów badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Mediana (1-3 kwartył) wieku rozpoznania	Wartość p	n	Mediana (1-3 kwartył) wieku najcięższego rzutu	Wartość p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	100	12,1 (9,7-14,8)	0,4061	91	13,6 (10,6-15,9)	0,6774
	AG	152	11,9 (8,7-14,2)		126	13,3 (10,8-15,3)	
	GG	59	12,2 (7,8-13,9)		52	13,4 (10,8-15,8)	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	25	12,3 (8,3-13,9)	0,6273	23	12,3 (9,2-15,3)	0,5535
	CT	136	12,1 (8,3-14,2)		114	13,4 (10,8-15,6)	
	CC	150	12,0 (9,3-14,7)		132	13,3 (10,8-15,8)	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	50	12,8 (10,4-15,1)	0,0570	39	13,8 (10,2-15,7)	0,6940
	CT	157	11,6 (8,3-13,6)		143	13,3 (10,8-15,6)	
	CC	104	12,4 (8,9-14,6)		87	13,9 (10,7-15,9)	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	69	12,1 (8,7-14,0)	0,7742	59	13,6 (10,4-15,7)	0,9074
	ε2/ε3	41	11,7 (9,3-14,5)		34	13,5 (11,6-16,0)	
	ε3/ε3	192	12,3 (8,7-14,4)		167	13,5 (10,8-15,7)	

Wiek rozpoznania: APOE ε2/ε4 (n=3): 8,1 (2,2-12,0); ε4/ε4 (n=4): 10,8 (7,0-13,8); ε2/ε2 (n=2): 9,7 (4,9-14,6)

Wiek najcięższego rzutu: APOE ε2/ε4 (n=3): 8,1 (7,5-12,2); ε4/ε4 (n=4): 14,8 (13,6-16,5); ε2/ε2 (n=2): 10,9 (7,3-14,6)

Analiza związku badanych polimorfizmów ze stanem odżywienia

Analiza związku badanych polimorfizmów z wysokością ciała, masą ciała, BMI oraz ich standaryzowanymi wartościami (z score) w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu nie wykazała istotnych różnic statystycznych między genotypami *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*.

Tabela 34. Parametry antropometryczne pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w momencie rozpoznania zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981804.

Parametr w momencie rozpoznania	<i>DMBT1</i> rs2981804			Wartość p
	AA	AG	GG	
Mediana (1 – 3 kwartyl)				
Masa ciała [kg]	37,5 (25,8-51,0)	37,3 (27,7-52,3)	36,4 (25,0-48,0)	0,8788
Wysokość ciała [cm]	150,0 (134,0-164,0)	151,0 (135,0-164,5)	147,0 (126,0-164,5)	0,3948
BMI [kg/cm ²]	16,5 (14,5-18,7)	16,9 (15,4-19,0)	17,0 (15,9-18,4)	0,6500
Masa ciała [z score]	-0,88 ([-1,54]-[-0,12])	-0,52 ([-1,04]-0,14)	-0,57 ([-1,18]-0,13)	0,0567
Wysokość ciała [z score]	-0,38 ([-1,26]-0,40)	-0,07 ([-0,93]-0,58)	-0,31 ([-1,19]-0,38)	0,2880
BMI [z score]	-0,84 ([-1,43]-[-0,16])	-0,45 ([-1,03]-0,11)	-0,57 ([-1,06]-0,18)	0,2098

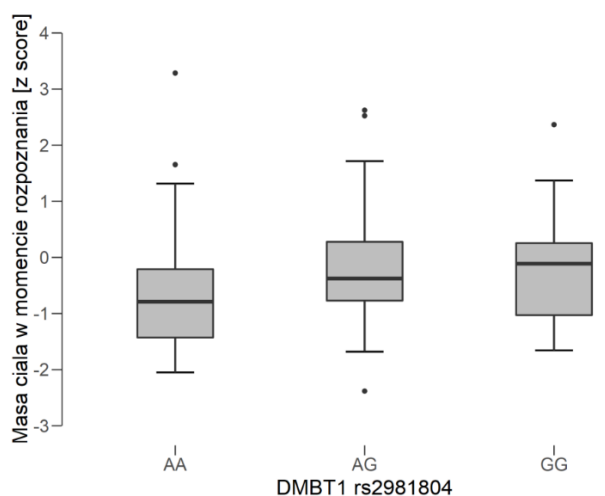
W modelu recesywnym u pacjentów z NZJ zaobserwowano różnicę w standaryzowanej masie ciała (AA -0,88 ([-1,54]-[-0,12]) vs. AG/GG -0,54 ([-1,04]-0,14); p=0,0055) i standaryzowanym BMI (AA -0,84 ([-1,43]-[-0,16] vs. AG/GG -0,55 ([-1,04]-0,14); p=0,0204).

W grupie pacjentów z ChLC nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie rozpoznania i zależnie od genotypu *DMBT1*, a także w modelu recesywnym i dominującym.

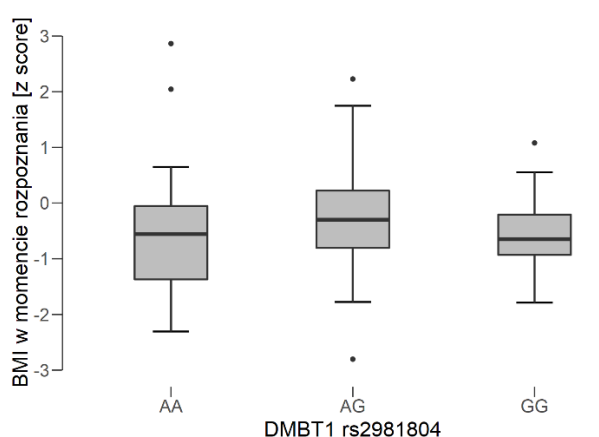
W grupie pacjentów z WZJG z wariantem AA polimorfizmu *DMBT1* rs2981804 zaobserwowano mniejsze wartości standaryzowanej masy ciała w momencie rozpoznania (mediana (1-3 kwartyl): AA -0,9 ([-1,5]-[-0,1]), AG -0,5 ([-1,0]-0,1), GG -0,6 ([-1,2]-0,1);

p=0,0415) (post hoc: AA vs. AG p=0,0200 Bonferroni i Holm) (Ryc. 5.). Różnica ta była istotna również w modelu recesywnym (AA: -0,79 ([-1,43]-[-0,20] vs. AG/GG -0,35 ([-0,86]-0,28); p=0,0122).

W grupie pacjentów z WZJG zaobserwowano również różnicę w rozkładzie wartości standaryzowanego BMI w momencie rozpoznania (mediana (1-3 kwartyl): AA -0,8 ([-1,4]-[-0,2]), AG -0,4 ([-1,0]-0,1), GG -0,6 ([-1,1]-0,2); p=0,0469) (post hoc: AA vs. AG p=0,0348 Bonferroni i Holm) (Ryc. 6.). W modelu recesywnym i dominującym nie było powyższej istotności statystycznej (odpowiednio p=0,0585; p=0,3281).



Ryc. 5. Standaryzowana masa ciała w momencie rozpoznania u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (mediana z rozstępem międzykwartyłowym).



Ryc. 6. Standaryzowana wartość indeksu masy ciała (BMI) w momencie rozpoznania u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (mediana z rozstępem międzykwartyłowym).

Nie wykazano różnic między parametrami antropometrycznymi w momencie najcięższego rzutu u pacjentów z NZJ a genotypem *DMBT1* rs2981804 (Tabela 35.) oraz w modelu dominującym. W modelu recesywnym zaobserwowano różnicę w standaryzowanej masie ciała w momencie najcięższego rzutu (AA -0,84 ([-1,36]-[-0,24]) vs. AG/GG -0,58 ([-1,20]-0,09); p=0,0488).

Tabela 35. Parametry antropometryczne pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w momencie najcięższego rzutu zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981804.

Parametr w momencie najcięższego rzutu Mediana (1 – 3 kwartyl)	<i>DMBT1</i> rs2981804			Wartość p
	AA	AG	GG	
Masa ciała [kg]	42,0 (29,3-53,0)	43,5 (32,0-55,0)	44,0 (31,7-51,8)	0,8689
Wysokość ciała [cm]	156,5 (141,0-164,0)	156,3 (144,5-168,0)	160,8 (141,0-170,8)	0,6927
BMI [kg/cm ²]	16,8 (14,9-19,7)	17,5 (15,6-20,2)	17,0 (15,8-18,8)	0,3202
Masa ciała [z score]	-0,84 ([-1,36]-[-0,24])	-0,54 ([-1,05]-0,11)	-0,67 ([-1,32]-0,01)	0,0647
Wysokość ciała [z score]	-0,35 ([-1,10]-0,24)	-0,24 ([-0,94]-0,57)	-0,49 ([-1,19]-0,42)	0,4201
BMI [z score]	-0,91 ([-1,39]-[-0,12])	-0,62 ([-1,05]-0,25)	-0,76 ([-1,26]-0,03)	0,2331

W grupach pacjentów z WZJG i ChLC nie wykazano różnic między parametrami antropometrycznymi w momencie najcięższego rzutu a badanymi genotypami *DMBT1* rs2981804, a także w modelu recesywnym i dominującym.

Nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie rozpoznania NZJ zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981745 (Tabela 36.) oraz w modelu recesywnym. W modelu dominującym zaobserwowano różnicę w standaryzowanej masie ciała w momencie rozpoznania (TT/CT -0,50 ([-1,07]-0,13) vs. CC -0,76 ([-1,39]-[-0,04]); p=0,0424).

Tabela 36. Parametry antropometryczne pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w momencie rozpoznania zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981745.

Parametr w momencie rozpoznania Mediana (1 – 3 kwartył)	<i>DMBT1</i> rs2981745			Wartość p
	TT	CT	CC	
Masa ciała [kg]	41,5 (21,5-48,0)	35,4 (27,2-51,0)	37,8 (25,8-51,9)	0,9763
Wysokość ciała [cm]	149,5 (123,5-164,5)	149,0 (131,5-164,5)	151,0 (134,0-164,0)	0,9410
BMI [kg/cm ²]	16,4 (15,9-19,1)	16,8 (15,3-18,8)	17,1 (14,8-18,8)	0,8801
Masy ciała [z score]	-0,57 ([-1,20]-0,22)	-0,44 ([-1,04]-0,13)	-0,76 ([-1,39]-0,04)	0,1273
Wysokość ciała [z score]	-0,34 ([-1,10]-0,96)	-0,15 ([-1,09]-0,53)	-0,30 ([-1,09]-0,45)	0,6217
BMI [z score]	-0,72 ([-1,20]-0,03)	-0,54 ([-1,07]-0,21)	-0,67 ([-1,30]-0,02)	0,2572

Nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie rozpoznania w grupach WZJG i ChLC zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981745, a także w modelach recesywnym i dominującym.

Nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie najcięższego rzutu zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981745 (Tabela 37.) oraz w modelu dominującym i recesywnym.

Tabela 37. Parametry antropometryczne pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w momencie najcięższego rzutu zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981745.

Parametr w momencie najcięższego rzutu Mediana (1 – 3 kwartył)	<i>DMBT1</i> rs2981745			Wartość p
	TT	CT	CC	
Masa ciała [kg]	41,5 (24,6-52,7)	44,6 (31,5-54,3)	42,3 (30,1-53,5)	0,8472
Wysokość ciała [cm]	159,5 (136,8-170,5)	157,0 (141,0-168,5)	156,5 (142,0-166,0)	0,9456
BMI [kg/cm ²]	16,3 (14,5-19,3)	17,3 (15,8-19,9)	17,2 (15,1-19,8)	0,2706
Masa ciała [z score]	-0,59 ([-1,38]-0,11)	-0,52 ([-1,12]-0,09)	-0,81 ([-1,34]-[-0,16])	0,2302
Wysokość ciała [z score]	-0,34 ([-1,19]-0,93]	-0,31 ([-1,17]-0,47)	-0,30 ([-1,00]-0,36)	0,8600
BMI [z score]	-0,89 ([-1,39]-[-0,17])	-0,64 ([-1,03]-0,26)	-0,84 ([-1,40]-0,01)	0,0861

Nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie najcięższego rzutu w grupach WZJG i ChLC zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981745, a także w modelach recesywnym i dominującym.

Nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu zależnie od genotypu *SFTPD* rs2243639 (Tabela 38. i 39.), w modelu dominującym oraz recesywnym.

Tabela 38. Parametry antropometryczne pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w momencie rozpoznania zależnie od genotypu *SFTPD* rs2243639.

Parametr w momencie rozpoznania	<i>SFTPD</i> rs2243639			Wartość p
	TT	CT	CC	
Mediana (1 – 3 kwartyl)				
Masa ciała [kg]	42,0 (29,5-52,5)	35,0 (25,0-47,0)	39,0 (26,6-52,0)	0,1302
Wysokość ciała [cm]	157,0 (145,0-166,5)	147,0 (130,0-162,0)	151,0 (133,0-166,0)	0,0965
BMI [kg/cm ²]	17,2 (16,0-19,1)	16,7 (14,8-18,4)	16,9 (14,7-19,1)	0,9467
Masa ciała [z score]	-0,54 ([-1,36]-0,15)	-0,62 ([-1,30]-[-0,11])	-0,61 ([-1,19]-0,16)	0,7143
Wysokości ciała [z score]	0,06 ([-1,09]-0,56)	-0,30 ([-1,15]-0,36)	-0,21 ([-0,93]-0,54)	0,2737
BMI [z score]	-0,58 ([-1,31]-0,09)	-0,61 ([-1,17]-0,11)	-0,65 ([-1,15]-0,04)	0,9747

Tabela 39. Parametry antropometryczne pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w momencie najcięższego rzutu zależnie od genotypu *SFTPD* rs2243639.

Parametr w momencie najcięższego rzutu	<i>SFTPD</i> rs2243639			Wartość p
	TT	CT	CC	
Mediana (1 – 3 kwartyl)				
Masa ciała [kg]	43,9 (29,5-54,3)	42,8 (31,7-52,7)	44,1 (28,7-56,0)	0,8890
Wysokość ciała [cm]	159,5 (145,0-167,0)	154,0 (142,0-168,0)	158,0 (141,0-169,0)	0,8696
BMI [kg/cm ²]	17,7 (15,0-20,7)	17,2 (15,7-19,4)	17,0 (15,4-20,2)	0,9467
Masa ciała [z score]	-0,57 ([-1,29]-0,15)	-0,70 ([-1,34]-[-0,11])	-0,7 ([-1,2]-0,2)	0,5093
Wysokość ciała [z score]	-0,17 ([-0,95]-0,65)	-0,36 ([-1,15]-0,25)	-0,3 ([-1,0]-0,5)	0,3634
BMI [z score]	-0,58 ([-1,28]-0,08)	-0,76 ([-1,33]-0,16)	-0,7 ([-1,3]-0,1)	0,6992

Nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie rozpoznania i momencie najcięższego rzutu w grupach WZJG i ChLC zależnie od genotypu *SFTPD* rs2243639, a także w modelach recesywnym i dominującym.

U pacjentów z NZJ nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu zależnie od genotypu *APOE* (Tabela 40. i 41.). Pacjenci z genotypem $\epsilon 3/\epsilon 3$ mieli mniejsze wartości standaryzowanej masy ciała w momencie rozpoznania od pozostałych pacjentów ($\epsilon 3/\epsilon 3$ -0,72 ([-1,34]-[-0,04]) vs. inne -0,43 ([-1,14]-0,31); $p=0,0346$).

Tabela 40. Parametry antropometryczne pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w momencie rozpoznania zależnie od genotypu *APOE*.

Parametr w momencie rozpoznania	<i>APOE</i>			Wartość p
	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	
Mediana (1 – 3 kwartyl)				
Masa ciała [kg]	38,4 (28,3-52,5)	36,9 (28,2-52,0)	36,9 (25,0-51,7)	0,7610
Wysokość ciała [cm]	150,0 (135,0-165,0)	148,3 (137,5-165,5)	151,0 (132,0-164,8)	0,9982
BMI [kg/cm ²]	16,9 (15,5-18,6)	16,7 (14,7-20,2)	16,9 (14,9-18,7)	0,8849
Masa ciała [z score]	-0,5 ([-1,2]-0,4)	-0,4 ([-1,0]-0,3)	-0,7 ([-1,3]-0,0)	0,0648
Wysokość ciała [z score]	0,1 ([-0,9]-1,0)	-0,2 ([-0,8]-0,3)	-0,3 ([-1,2]-0,5)	0,2123
BMI [z score]	-0,5 ([-1,1]-0,3)	-0,3 ([-1,1]-0,1)	-0,6 ([-1,2]-0,0)	0,4340

Masa ciała [kg] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: 32,3 (21,5-42,8); $\epsilon 2/\epsilon 4$: 21,0 (11,0-42,0); $\epsilon 4/\epsilon 4$: 38,0 (23,5-45,0)
Wysokość ciała [cm] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: 136,5 (115,0-158,0); $\epsilon 2/\epsilon 4$: 122,5 (82,0-152,5); $\epsilon 4/\epsilon 4$: 145,5 (116,5-155,0)
BMI [kg/cm²] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: 16,7 (16,3-17,1); $\epsilon 2/\epsilon 4$: 16,4 (14,0-18,1); $\epsilon 4/\epsilon 4$: 17,9 (16,0-18,7)
Masa ciała [z score] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: -0,3 ([-1,3]-0,8); $\epsilon 2/\epsilon 4$: -1,1 ([-1,7]-[-0,3]); $\epsilon 4/\epsilon 4$: -0,6 ([-1,5]-[-0,1])
Wysokość ciała [z score] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: 0,1 ([-0,8]-1,0); $\epsilon 2/\epsilon 4$: -1,3 ([-2,9]-0,0); $\epsilon 4/\epsilon 4$: -0,3 ([-1,6]-0,0)
BMI [z score] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: 0,4 ([-1,1]-0,3); $\epsilon 2/\epsilon 4$: -0,3 ([-0,9]-[-0,2]); $\epsilon 4/\epsilon 4$: -0,5 ([-0,8]-0,0)

Nie obserwowano różnic w parametrach antropometrycznych w momencie rozpoznania i momencie najcięższego rzutu w grupie pacjentów z ChLC zależnie od genotypu *APOE*. Pacjenci z WZJG i genotypem $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=2) w momencie rozpoznania mieli mniejsze wartości standaryzowanej wysokości ciała od pozostałych pacjentów (n=121) ($\epsilon 2/\epsilon 4$ -2,11 ([-2,92]-[-1,29]) vs. inne 0,11 ([-0,62]-0,71); $p=0,0315$). Pacjenci z WZJG i allelem *APOE* 3+ (n=117) mieli większe wartości standaryzowanej wysokości ciała przy rozpoznaniu niż inni pacjenci (n=6) (3+ 0,13 ([-0,61]-0,82) vs. inne -1,03 ([-2,67]-[-0,12]); $p=0,0153$).

Tabela 41. Parametry antropometryczne pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w momencie najcięższego rzutu w zależności od genotypu *APOE*.

Parametr w momencie najcięższego rzutu	<i>APOE</i>			Wartość p
	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	
Mediana (1 – 3 kwartył)				
Masa ciała [kg]	45,0 (30,0-56,3)	42,0 (31,6-53,0)	42,0 (30,2-53,2)	0,7982
Wysokość ciała [cm]	158,8 (142,0-169,5)	153,0 (147,0-166,0)	157,0 (141,0-168,0)	0,9707
BMI [kg/cm ²]	17,2 (15,7-19,5)	17,1 (15,3-20,3)	17,2 (15,2-19,5)	0,9299
Masa ciała [z score]	-0,6 ([-1,0]-0,2)	-0,5 ([-1,0]-0,0)	-0,8 ([-1,4]-[-0,1])	0,1467
Wysokość ciała [z score]	-0,2 ([-0,9]-0,4)	-0,3 ([-0,9]-0,2)	-0,4 ([-1,2]-0,5)	0,3994
BMI [z score]	-0,5 ([-1,2]-0,3)	-0,7 ([-1,1]-0,1)	-0,8 ([-1,4]-[-0,1])	0,2980

Masa ciała [kg] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: 42,8; $\epsilon 2/\epsilon 4$: 21,0 (18,7-52,0); $\epsilon 4/\epsilon 4$: 52,0 (43,1-58,0)

Wysokość ciała [cm] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: 158,0; $\epsilon 2/\epsilon 4$: 122,5 (115,7-153,5); $\epsilon 4/\epsilon 4$: 167,5 (154,0-175,0)

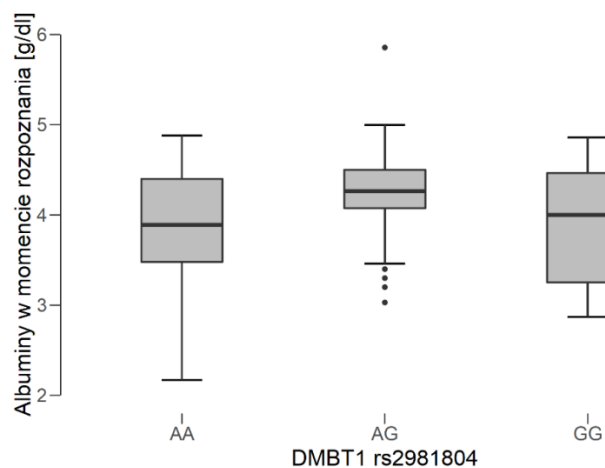
BMI [kg/cm²] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: 17,1; $\epsilon 2/\epsilon 4$: 14,0 (14,0-22,1); $\epsilon 4/\epsilon 4$: 20,7 (18,8-21,6)

Masa ciała [z score] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: -1,3; $\epsilon 2/\epsilon 4$: -1,1 ([-1,5]-0,6); $\epsilon 4/\epsilon 4$: -0,4 ([-1,0]-0,0)

Wysokość ciała [z score] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: -0,8; $\epsilon 2/\epsilon 4$: -1,3 ([-2,0]-[-0,1]); $\epsilon 4/\epsilon 4$: 0,3 ([-1,4]-0,4)

BMI [z score] genotyp *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 2$: -1,1; $\epsilon 2/\epsilon 4$: -0,9 ([-1,0]-0,9); $\epsilon 4/\epsilon 4$: 0,1 ([-1,0]-0,7)

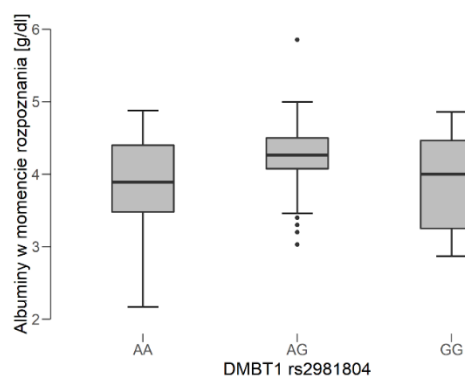
Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w medianach stężeń albumin w momencie rozpoznania dla polimorfizmu rs2981804 w genie *DMBT1* (post hoc: AA vs. AG p=0,0045 Bonferroni i Holm) (Ryc. 7. i Tabela 42.). U pacjentów z genotypem heterozygotycznym AG mediana stężenia albumin była większa niż stężenia u dzieci z genotypem AA i GG. Różnica ta występowała również w przypadku pacjentów z allelem G (n=175), u których obserwowano większe stężenie albumin (AG/GG 4,07 (3,70-4,43) vs. AA 3,80 (3,42-4,24); p=0,0055) niż u pacjentów bez allelu G (n=87). Związek ten dotyczył tylko pacjentów z WZJG, u których allel G był związany z większym stężeniem albumin (p=0,0190).



Ryc. 7. Stężenia albumin w momencie rozpoznania u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981804 (mediana z rozstępem międzykwartylowym).

W grupie pacjentów z WZJG zaobserwowano różnicę w stężeniach albumin w momencie rozpoznania w zależności od genotypu *DMBT1* rs2981804 (Ryc. 8).

Gen SNP	Genotyp	Mediana stężenia albumin [g/dl]	Wartość p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	3,89 (3,46-4,40)	0,0133
	AG	4,26 (4,07-4,50)	
	GG	4,00 (3,24-4,47)	



Ryc. 8. Stężenie albumin [g/dl] w momencie rozpoznania u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981804 (post hoc: AA vs. AG $p=0,0083$ Bonferroni i Holm; AG vs. GG $p=0,0388$ Holm) (mediana z rozstępem międzykwartylowym).

Tabela 42. Stężenie albumin w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu zależnie od genotypów badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Mediana (1-3 kwartył) stężenia albumin [g/dl] w momencie rozpoznania	Wartość p	n	Mediana (1-3 kwartył) stężenia albumin [g/dl] w momencie najcięższego rzutu	Wartość p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	87	3,80 (3,42-4,24)	0,0113	81	3,96 (3,50-4,30)	0,2244
	AG	127	4,10 (3,77-4,42)		116	4,02 (3,65-4,42)	
	GG	47	4,00 (3,53-4,48)		46	3,94 (3,61-4,30)	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	22	3,96 (3,53-4,46)	0,4766	21	3,90 (3,46-4,30)	0,4692
	CT	111	4,00 (3,70-4,41)		104	4,00 (3,71-4,37)	
	CC	128	3,90 (3,60-4,40)		118	3,98 (3,55-4,40)	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	42	4,10 (3,50-4,48)	0,3614	35	4,20 (3,85-4,40)	0,3133
	CT	134	3,94 (3,50-4,39)		132	3,98 (3,60-4,39)	
	CC	85	4,00 (3,70-4,40)		76	3,97 (3,50-4,30)	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	$\epsilon 3/\epsilon 4$	53	3,97 (3,53-4,40)	0,2742	53	4,10 (3,83-4,40)	0,1524
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	36	4,08 (3,79-4,52)		32	3,95 (3,79-4,52)	
	$\epsilon 3/\epsilon 3$	165	4,00 (3,50-4,39)		151	3,90 (3,43-4,35)	

Albuminy w momencie rozpoznania *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=2): 3,8 (3,2-4,4), $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=3): 3,7 (2,9-4,5); $\epsilon 2/\epsilon 2$ (n=2): 4,8 (4,7-4,9).

Albuminy w momencie najcięższego rzutu: *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=3): 3,9 (3,2-4,0); $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=2): 4,2 (4,0-4,4); $\epsilon 2/\epsilon 2$ n=(2): 4,8 (4,7-4,8).

Analiza związku genotypów *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* ze stężeniem albumin w momencie najcięższego rzutu nie wykazała istotnych różnic statystycznych.

Analiza związku badanych polimorfizmów ze stanem zapalnym

Analiza związku badanych polimorfizmów ze stężeniem CRP w momencie rozpoznania nie wykazała istotnych różnic statystycznych (Tabela 43.).

Zarówno w grupie pacjentów z ChLC, jak i w grupie pacjentów z WZJG nie obserwowano różnic w stężeniach CRP w momencie rozpoznania w zależności od genotypu *APOE*. W grupie pacjentów z ChLC nie obserwowano różnic w stężeniach CRP w momencie rozpoznania w zależności od pozostałych genotypów.

Rozkład wartości CRP w momencie najcięższego rzutu różnił się w zależności od genotypu *APOE* ($p=0,0353$) (post hoc: ϵ_3/ϵ_3 vs. ϵ_3/ϵ_4 $p=0,0653$ Bonferroni i Holm), oraz w trzech najczęstszych wariantach ($p=0,0196$) (post hoc: ϵ_2/ϵ_3 vs. ϵ_3/ϵ_4 $p=0,0370$ (Bonferroni), $p=0,0246$ (Holm); ϵ_3/ϵ_3 vs. ϵ_3/ϵ_4 $p=0,0139$ (Bonferroni i Holm) (Tabela 43.). Różnica w wartościach CRP między trzema najczęstszymi wariantami była obecna u pacjentów z WZJG ($p=0,0157$).

Tabela 43. Steżenie białka C-reaktywnego (CRP) w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu zależnie od genotypów badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Mediana (1-3 kwartył) stężenia CRP [mg/l] w momencie rozpoznania	Wartość p	n	Mediana (1-3 kwartył) stężenia CRP [mg/l] w momencie najcięższego rzutu	Wartość p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	89	8,4 (1,3-21,0)	0,5998	86	6,9 (1,3-28,3)	0,2265
	AG	126	5,5 (0,7-18,2)		122	4,6 (0,8-20,1)	
	GG	49	8,0 (0,7-18,3)		51	6,4 (1,9-28,4)	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	23	10,4 (2,1-20,8)	0,1402	22	16,4 (3,6-29,6)	0,1764
	CT	111	5,1 (0,5-18,2)		111	4,6 (1,0-20,6)	
	CC	130	8,0 (1,0-20,1)		126	5,8 (0,8-25,0)	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	40	8,0 (0,7-23,6)	0,5577	38	6,2 (1,2-23,1)	0,8718
	CT	139	5,6 (1,0-16,4)		141	6,4 (1,1-21,2)	
	CC	85	8,2 (0,7-20,2)		80	3,5 (1,0-27,4)	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ϵ_3/ϵ_4	50	7,8 (0,4-15,5)	0,3547	57	3,0 (0,4-16,1)	0,0196
	ϵ_2/ϵ_3	36	5,8 (0,7-21,0)		33	18,3 (1,7-29,2)	
	ϵ_3/ϵ_3	171	7,6 (0,8-19,8)		161	6,8 (1,6-23,3)	

CRP w momencie rozpoznania *APOE* ϵ_2/ϵ_4 (n=3): 1,0 (0,7-3,6); ϵ_4/ϵ_4 (n=2): 12,8 (0,0-15,0); ϵ_2/ϵ_2 (n=2): 1,0 (0,2-1,8).
CRP w momencie najcięższego rzutu *APOE* ϵ_2/ϵ_4 (n=3): 1,0 (0,3-3,6); ϵ_4/ϵ_4 (n=3): 6,4 (1,4-10,1); ϵ_2/ϵ_2 (n=2): 1,0 (0,3-1,8).

W grupie pacjentów z WZJG zaobserwowano różnice w stężeniach CRP w momencie rozpoznania w zależności od genotypu *DMBT1* (Tabela 44. i Ryc. 9. i 10.). Różnice występowały również dla alleli *DMBT1*. Dla pacjentów z allelem C+ rs2981745 stężenia CRP w momencie rozpoznania były mniejsze niż u pozostałych pacjentów (CC/CT 1,4

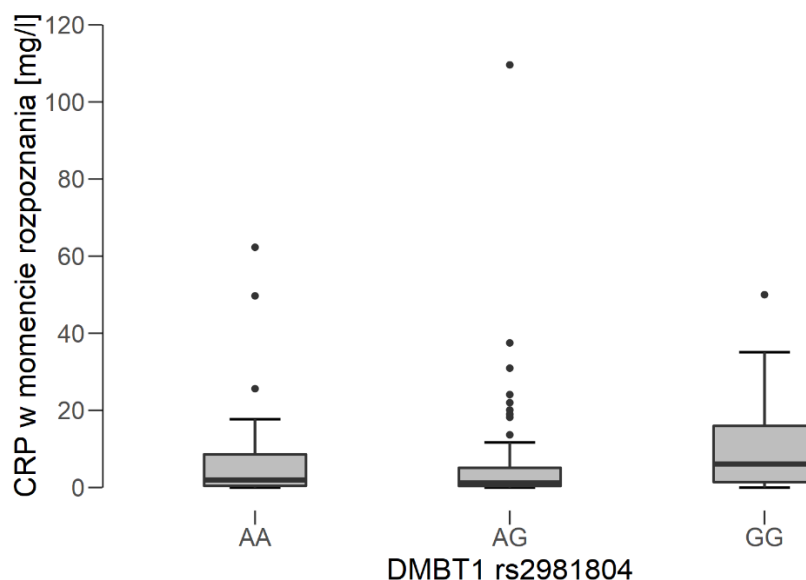
(0,4-6,3) vs. TT 15,3 (8,0-23,2); $p=0,0009$). Dla pacjentów z allelem A+ rs2981804 stężenia CRP w momencie rozpoznania były mniejsze niż u pozostałych pacjentów (AA/AG 1,4 (0,4-6,3) vs. GG 6,1 (0,7-16,2); $p=0,0143$)

Tabela 44. Stężenie białka C-reaktywnego (CRP) w momencie rozpoznania wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (WZJG) zależnie od genotypów *DMBT1*.

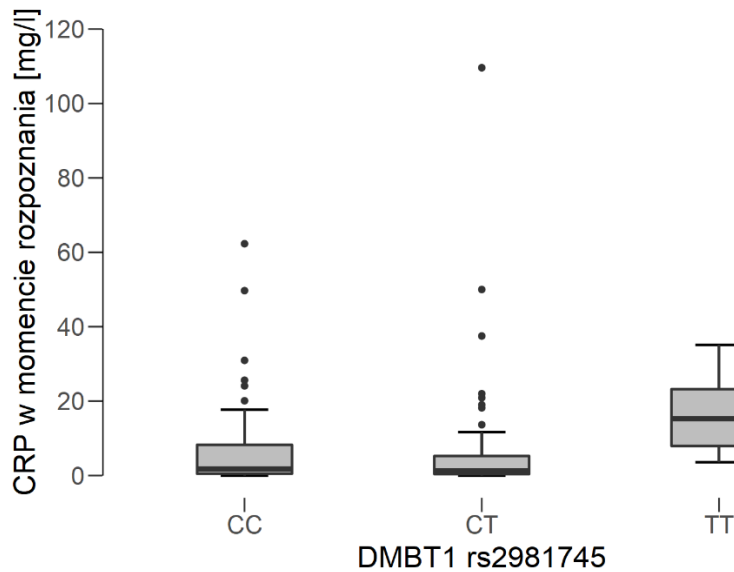
Gen SNP	Genotyp	n	Mediana stężenia CRP [mg/l]	Wartość p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	33	2,2 (0,4-8,9)	0,0402*
	AG	57	1,8 (0,4-5,1)	
	GG	20	7,3 (0,7-16,2)	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	9	15,3 (8,0-23,2)	0,0108**
	CT	51	2,0 (0,4-5,3)	
	CC	50	2,0 (0,5-8,3)	

*post hoc: AG vs. GG $p=0,0128$ Bonferroni i Holm

** post hoc: CC vs. TT $p=0,0042$ (Bonferroni) $p=0,0028$ (Holm);
CT vs. TT $p=0,0010$ (Bonferroni i Holm)



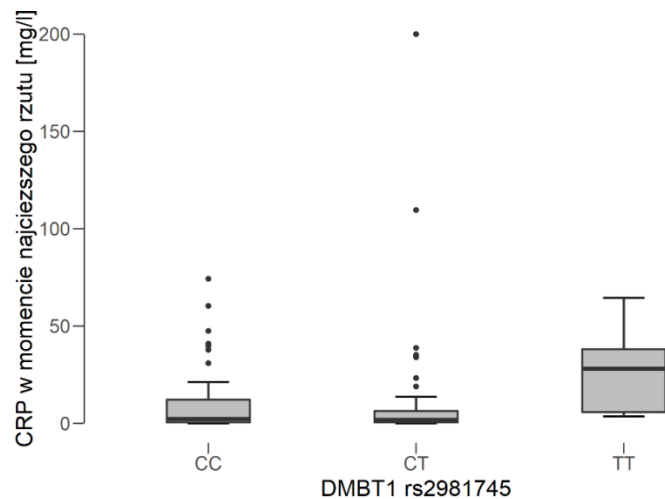
Ryc. 9. Stężenie białka C-reaktywnego (CRP) [mg/l] u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG) zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981804 (mediana z rozstępem międzykwartylowym).



Ryc. 10. Stężenia białka C-reaktywnego (CRP) [mg/l] w momencie rozpoznania u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG) zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981745 (mediana z rozstępem międzykwartyłowym).

Analiza związku genotypów *DMBT1* i *SFTPD* ze stężeniem CRP w momencie najcięższego rzutu nie wykazała istotnych różnic statystycznych (Tabela 43.). Analiza stężeń CRP w zależności od allelu *APOE* wykazała, że pacjenci z allelem *APOE* 4+ (n=63) w najcięższym rzucie prezentują mniejsze mediany wartości CRP niż pozostali pacjenci (n=196) (4+ 3,0 (0,4-15,0) vs. inni 6,9 (1,6-27,4); p=0,0034). U pacjentów z WZJG i allelem *APOE* 4+ (n=32) również występowały mniejsze stężenia CRP w momencie najcięższego rzutu niż u pozostałych pacjentów (n=79) (4+ 0,9 (0,2-3,9) vs. inni 3,3 (1,0-13,7); p=0,0049).

Zarówno w grupie pacjentów z ChLC, jak i w grupie pacjentów z WZJG nie obserwowano różnic w stężeniach CRP w momencie najcięższego rzutu w zależności od genotypu *SFTPD* i *DMBT1* rs2981804. Odnotowano natomiast różnicę istotną statystycznie w stężeniach CRP w momencie najcięższego rzutu wśród pacjentów z WZJG w zależności od genotypu *DMBT1* rs2981745 (p=0,0089) (post hoc: CC vs. TT p=0,0082 (Bonferroni), p=0,0054 (Holm); CT vs. TT p=0,0033 (Bonferroni i Holm)) (Ryc. 11.).



Ryc. 11. Stężenie białka C-reaktywnego (CRP) [mg/l] w momencie najcięższego rzutu u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG) zależnie od genotypu *DMBT1* rs2981745 (mediana z rozstępem międzykwartyłowym).

Analiza związku z allelami *DMBT1* rs2981745 wykazała że pacjenci z WZJG i allelem C+ (n=103) mają mniejsze mediany stężeń CRP w najgorszym rzucie (CC/CT 2,0 (0,5-7,3) vs. TT 28,1 (5,2-43,9); p=0,0025) niż pozostali pacjenci (n=9).

Analiza związku badanych polimorfizmów ze wskaźnikami aktywności choroby

Analiza median wartości wskaźników aktywności ChLC w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu nie wykazała różnic istotnych statystycznie w zależności od genotypu *DMBT1* i *SFTPD* (Tabela 45.).

Tabela 45. Wskaźnik aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna zależnie od genotypów badanych polimorfizmów.

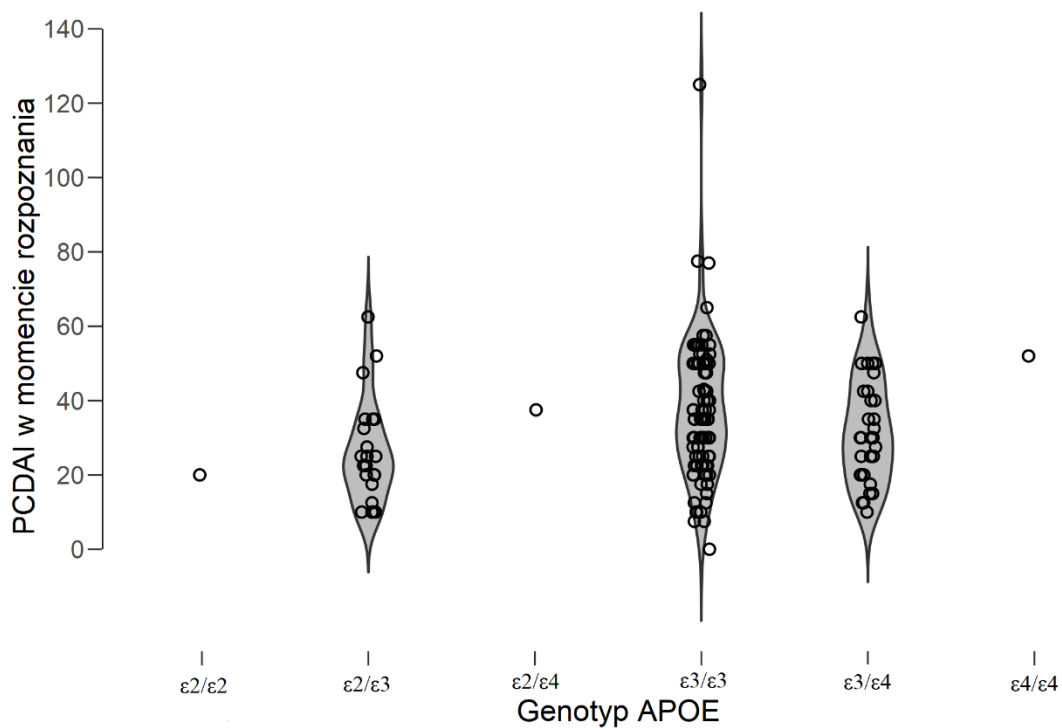
Gen SNP	Genotyp	n	Mediana (1-3 kwartył) wskaźnika PCDAI w momencie rozpoznania	Wartość p	n	Mediana (1-3 kwartył) wskaźnika PCDAI w momencie najcięższego rzutu	Wartość p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	54	31 (23-50)	0,2948	50	48 (30-55)	0,6505
	AG	71	35 (23-50)		59	40 (28-53)	
	GG	30	30 (20-38)		28	50 (30-54)	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	14	33 (20-43)	0,6500	13	35 (30-53)	0,8830
	CT	61	35 (25-48)		55	48 (30-55)	
	CC	80	31 (23-50)		68	48 (30-55)	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	26	33 (23-50)	0,8717	23	40 (30-50)	0,6573
	CT	75	30 (20-48)		68	48 (29-54)	
	CC	54	35 (23-50)		45	50 (30-55)	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	$\epsilon 3/\epsilon 4$	30	30 (20-43)	0,0028	28	39 (30-53)	0,1233
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	23	23 (18-35)		18	33 (23-51)	
	$\epsilon 3/\epsilon 3$	99	35 (25-50)		87	50 (33-35)	

PCDAI w momencie rozpoznania *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 4$: 37,5; $\epsilon 4/\epsilon 4$: 52,5; $\epsilon 2/\epsilon 2$: 20

PCDAI w momencie najcięższego rzutu *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 4$: 22,5; $\epsilon 4/\epsilon 4$: 30; $\epsilon 2/\epsilon 2$: 30

Wykazano różnicę w rozkładzie wartości PCDAI w momencie rozpoznania zależnie od wszystkich sześciu genotypów *APOE* ($p=0,0171$) (post hoc: $\epsilon 2/\epsilon 3$ vs. $\epsilon 3/\epsilon 3$ $p=0,0092$ Bonferroni i Holm) (Ryc. 12.). U pacjentów z genotypem *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 3$ wykazano wyższe wartości PCDAI w momencie rozpoznania niż u pozostałych pacjentów ($\epsilon 3/\epsilon 3$ 35,0 (25,0-50,0) vs. inni 26,3 (20,0-38,8); $p=0,0024$). U pacjentów z genotypem $\epsilon 2/\epsilon 3$ wartości PCDAI w momencie rozpoznania były mniejsze niż u pozostałych pacjentów ($\epsilon 2/\epsilon 3$ 22,5 (17,5-35,0) vs. 35,0 (25,0-50,0); $p=0,0033$). Pacjenci z allelem *APOE* 2+ mieli mniejsze wartości PCDAI w momencie rozpoznania od pozostałych pacjentów (2+ 22,5 (20,0-35,0) vs. inni 35,0 (25,0-50,0); $p=0,0028$).

W najcięższym rzucie, pacjenci z genotypem $\epsilon 3/\epsilon 3$ prezentowali większe wartości PCDAI od pozostałych pacjentów ($\epsilon 3/\epsilon 3$ 50,0 (32,5-55,0) vs. 35,0 (27,5-51,0); $p=0,0233$).



Ryc. 12. Wartości aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna w skali PCDAI w momencie rozpoznania, zależnie od prezentowanego genotypu *APOE*.

Analiza median wartości wskaźników aktywności WZJG w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu nie wykazała różnic istotnych statystycznie w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* (Tabela 46.).

Tabela 46. Wskaźnik aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego zależnie od genotypów badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Mediana (1-3 kwartył) wskaźnika PUCAI w momencie rozpoznania	Wartość p	n	Mediana (1-3 kwartył) wskaźnika PUCAI w momencie najcięższego rzutu	Wartość p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	37	50 (40-65)	0,1787	34	55 (40-65)	0,5481
	AG	63	40 (25-60)		57	50 (35-70)	
	GG	20	43 (30-50)		17	60 (45-70)	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	8	40 (35-48)	0,2304	7	50 (45-70)	0,8472
	CT	57	40 (25-60)		51	50 (35-70)	
	CC	55	50 (30-65)		50	55 (35-70)	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	17	45 (30-70)	0,9843	14	55 (38-75)	0,6892
	CT	67	45 (25-60)		63	55 (40-65)	
	CC	36	45 (30-55)		31	50 (30-70)	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	$\epsilon 3/\epsilon 4$	31	50 (20-65)	0,4617	28	50 (33-68)	0,8497
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	10	43 (18-55)		9	60 (20-70)	
	$\epsilon 3/\epsilon 3$	73	45 (30-55)		65	55 (40-70)	

PUCAI w momencie rozpoznania *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=2): 48; $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=3): 70; $\epsilon 2/\epsilon 2$ (n=1): 45

PUCAI w momencie najcięższego rzutu *APOE* $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=2): 50; $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=3): 75; $\epsilon 2/\epsilon 2$ (n=1): 45.

Analiza alleli *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* nie wykazała istotnego związku z wskaźnikami aktywności dla obu chorób z wyjątkiem polimorfizmu rs2981804. W modelu recesywnym,

pacjenci z allelem G+ (n=83) prezentowali mniejsze mediany wskaźnika PUCAI przy rozpoznaniu niż pozostali pacjenci (n=37) (AG/GG 40 (25-55) vs. AA 50 (40-65); p=0,0308).

Analiza związku badanych polimorfizmów z objawami współwystępującymi

U badanych pacjentów nie zaobserwowano różnic w częstości współwystępowania objawów skórnych (Tabela 47.), stawowych (Tabela 48.) i alergii (Tabela 49.) w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*.

Tabela 47. Związek genotypów badanych polimorfizmów z współwystępowaniem objawów skórnych u badanych pacjentów.

Gen SNP	Genotyp	Objawy skórne w wywiadzie		Wartość p
		n	%	
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA n=100	13	13,0	0,2551
	AG n=152	14	9,2	
	GG n=59	3	5,1	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT n=25	1	4,0	0,4700
	CT n=136	12	8,8	
	CC n=150	17	11,3	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT n=50	5	10,0	0,6803
	CT n=157	13	8,2	
	CC n=104	12	11,5	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4 n=69	8	11,6	0,1726
	ε2/ε3 n=41	7	17,5	
	ε3/ε3 n=192	15	7,8	

APOE ε2/ε4 (n=3) 0; ε4/ε4 (n=4): 0; ε2/ε2 (n=2): 0

Nie zaobserwowano różnic w częstości występowania objawów skórnych w grupach WZJG i ChLC w zależności od alleli *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, z wyjątkiem polimorfizmu *DMBT1* rs2981804 u pacjentów z ChLC w modelu recesywanym. Pacjenci z allelem G+ mieli znacznie mniej objawów skórnych od pacjentów z genotypem AA (AG/GG 7,0% vs. AA 21,7%; p=0,0069).

Tabela 48. Związek genotypów badanych polimorfizmów z współwystępowaniem objawów ze strony stawów u badanych pacjentów.

Gen SNP	Genotyp	Objawy ze strony stawów		Wartość p
		n	%	
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA n=100	11	11,0	0,2267
	AG n=152	23	15,1	
	GG n=59	4	6,8	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT n=25	4	16,0	0,6136
	CT n=136	14	10,3	
	CC n=150	20	13,3	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT n=50	9	18,0	0,3300
	CT n=157	19	12,1	
	CC n=104	10	9,6	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	$\epsilon 3/\epsilon 4$ n=69	9	13,0	0,9735
	$\epsilon 2/\epsilon 3$ n=41	5	12,2	
	$\epsilon 3/\epsilon 3$ n=192	23	12,0	

APOE $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=3) 1, 33,3% (WZJG); $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=4): 0; $\epsilon 2/\epsilon 2$ (n=2): 0

Nie zaobserwowano różnic w częstości występowania objawów ze strony stawów u pacjentów z NZJ w zależności od alleli *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, także w grupach WZJG i ChLC.

Tabela 49. Związek genotypów badanych polimorfizmów z współwystępowaniem alergii (w tym wziewne i pokarmowe) u badanych pacjentów.

Gen SNP	Genotyp	Alergie w wywiadzie		Wartość p
		n	%	
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA n=100	17	17,0	0,2589
	AG n=152	26	17,1	
	GG n=59	5	8,5	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT n=25	1	4,0	0,2546
	CT n=136	22	16,2	
	CC n=150	25	16,7	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT n=50	6	12,0	0,7408
	CT n=157	26	16,6	
	CC n=104	16	15,4	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	$\epsilon 3/\epsilon 4$ n=69	10	14,5	0,4729
	$\epsilon 2/\epsilon 3$ n=41	4	9,8	
	$\epsilon 3/\epsilon 3$ n=192	33	17,2	

APOE $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=3) 0; $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=4): 0; $\epsilon 2/\epsilon 2$ (n=2): 1, 50,0% (WZJG)

Nie zaobserwowano różnic w częstości występowania alergii wziewnych i pokarmowych u pacjentów z NZJ w zależności od alleli *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, także w grupach WZJG i ChLC.

Analiza związku badanych polimorfizmów ze stosowanym leczeniem

Analiza związku polimorfizmów z koniecznością stosowania glikokortykosteroidoterapii systemowej

Nie zaobserwowano różnic w częstości stosowania glikokortykosteroidoterapii systemowej w zależności od genotypu *DMBT1* i *APOE*. Wykazano różnicę w częstości przyjmowania glikokortykosteroidoterapii systemowej w zależności od genotypu *SFTPD* (post hoc: CC vs. CT P=0,0016 Bonferroni i Holm) (Tabela 50.).

Tabela 50. Konieczność stosowania glikokortykosteroidoterapii systemowej zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	%	p	Glikokortykosteroidoterapia systemowa w wywiadzie					
					WZJG			ChLC		
					n	%	p	n	%	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA n=100	63	63,0	0,9393	32	80,0	0,3600	31	51,7	0,4166
	AG n=152	94	61,8		52	72,2		42	52,5	
	GG n=59	38	64,0		16	64,0		22	64,7	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT n=25	16	64,0	0,8656	4	44,4	0,0747	12	75,0	0,2267
	CT n=136	83	61,0		46	70,8		37	52,1	
	CC n=150	96	64,0		50	79,4		46	52,9	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT n=50	29	58,0	0,1318	15	75,0	0,0052	14	46,7	0,6077
	CT n=157	107	68,2		60	83,3		47	55,3	
	CC n=104	59	56,7		25	55,6		34	57,6	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4 n=69	43	62,3	0,5897	25	71,4	0,4520	18	52,9	0,9728
	ε2/ε3 n=41	23	56,1		8	61,5		15	53,6	
	ε3/ε3 n=192	124	64,6		64	77,1		60	55,0	

APOE ε2/ε4 (n=3) 2, 66,7% (WZJG i ChLC); ε4/ε4 (n=4): 2, 50% (WZJG); ε2/ε2 (n=2): 1, 50,0% (ChLC)

U grupie pacjentów z WZJG, w modelu dominującym badani z allelem T+ polimorfizmu *SFTPD* byli znacznie częściej lechni glikokortykosteroidoterapią systemową (TT/CT 81,5% vs. CC 55,6%; p=0,0020).

Analiza związku polimorfizmów z koniecznością stosowania leczenia immunosupresyjnego

Nie zaobserwowano różnic w częstości stosowania immunosupresji u pacjentów z NZJ w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*.

Tabela 51. Leczenie immunosupresyjne zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	%	p	Leczenie immunosupresyjne w wywiadzie					
					WZJG			ChLC		
					n	%	p	n	%	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA n=100	75	75,0	0,6228	27	67,5	0,8028	48	80,0	0,3113
	AG n=152	109	71,5		45	62,5		64	80,0	
	GG n=59	46	78,0		15	60,0		31	91,2	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT n=25	19	76,0	0,9554	4	44,4	0,4694	15	93,8	0,3692
	CT n=136	101	74,3		42	64,6		59	83,1	
	CC n=150	110	73,3		41	65,1		69	79,3	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT n=50	35	70,0	0,6963	13	65,0	0,3888	22	73,3	0,3109
	CT n=157	119	75,8		49	68,1		70	82,4	
	CC n=104	76	73,1		25	55,6		51	86,4	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4 n=69	51	74,0	0,0850	23	65,7	0,1247	28	82,4	0,2262
	ε2/ε3 n=41	25	61,0		5	38,5		20	71,4	
	ε3/ε3 n=192	149	77,6		56	67,5		93	85,3	

APOE ε2/ε4 (n=3): 2, 66,7%; ε4/ε4 (n=4): 2; ε2/ε2 (n=2): 1, 50%

Nie zaobserwowano różnic w częstości stosowania immunosupresji u pacjentów z NZJ w zależności od allelu *DMBT1*, *SFTPD* oraz w grupach chorych na WZJG i ChLC.

Zaobserwowano natomiast różną częstość stosowania leczenia immunosupresyjnego u pacjentów z NZJ i allelem *APOE* 2 (2+ 60,9% vs. inni 76,2%; p=0,0438), a także u pacjentów z WZJG i allelem 2+ (2+ 37,5% vs. 66,9%; p=0,0281).

Nie zaobserwowano różnic w wieku podaży pierwszej immunosupresji w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*.

Tabela 52. Mediana wieku podaży pierwszej immunosupresji zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	lata	p	Wiek podaży pierwszej immunosupresji					
					WZJG			ChLC		
					n	lata	p	n	lata	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	74	12,7	0,6072	26	9,9	0,6060	48	13,1	0,1106
	AG	107	12,0		44	11,6		63	12,1	
	GG	46	12,5		15	13,0		31	12,4	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	19	14,0	0,8815	4	13,7	0,5755	15	12,5	0,4107
	CT	99	12,2		41	12,0		58	12,3	
	CC	109	12,5		40	11,5		69	13,1	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	34	12,3	0,0751	12	11,7	0,3424	22	13,7	0,0845
	CT	117	12,1		48	11,5		69	12,5	
	CC	76	12,3		25	13,6		51	12,2	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	50	11,8	0,8191	22	10,7	0,3272	28	12,6	0,6931
	ε2/ε3	25	12,2		5	14,7		20	12,1	
	ε3/ε3	147	12,6		55	12,3		92	12,8	

APOE ε2/ε4 (n=2): 7,9 lat (tj. pacjent z WZJG 3,9; pacjent z ChLC 12,0); *APOE* ε4/ε4 (n=2): 7,4 lat (WZJG); *APOE* ε2/ε2 4,6 lat (ChLC)

Pacjenci z NZJ i allelem 3+ (n=222) otrzymywali pierwszą immunosupresję w starszym wieku niż pozostali pacjenci (n=5) (3+ 12,4 (9,4-12,4) vs. inni 4,6 (3,9-11,3); p=0,0271). Wiek włączenia pierwszej immunosupresji u pacjentów z ChLC różnił się w zależności od allelu polimorfizmu *SFTPD* (CC/CT 12,7 (10,1-13,9) vs. TT 12,6 (9,7-15,4); p=0,0444),

a także od allelu *DMBT1* rs2981804 (AG/GG 12,2 (8,9-13,9) vs. AA 13,1 (11,2-14,6); p=0,0368).

Nie zaobserwowano różnic w czasie od rozpoznania do podaży pierwszego leczenia immunosupresyjnego w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* u pacjentów z NZJ a także w grupach WZJG i ChLC. Nie zaobserwowano różnic w czasie od rozpoznania do podaży pierwszego leczenia immunosupresyjnego u pacjentów z NZJ w zależności od alleli *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, także w grupach WZJG i ChLC.

Tabela 53. Mediana czasu trwania choroby do podaży pierwszej immunosupresji zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	msc	p	Czas od rozpoznania do podaży pierwszego leczenia immunosupresyjnego					
					WZJG			ChLC		
					n	msc	p	n	msc	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	74	2,2	0,4657	26	3,3	0,6316	48	2,0	0,6968
	AG	107	2,0		44	2,6		63	1,4	
	GG	46	0,3		15	1,3		31	0,2	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	19	0,7	0,9442	4	20,5	0,0792	15	0,1	0,5696
	CT	99	2,0		41	2,0		58	2,0	
	CC	109	2,0		40	2,9		69	1,0	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	34	2,5	0,7721	12	4,6	0,5336	22	0,9	0,4179
	CT	117	1,4		48	2,5		69	1,0	
	CC	76	2,0		25	1,9		51	2,0	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	50	2,0	0,9832	22	3,0	0,9520	28	1,2	0,9973
	ε2/ε3	25	1,9		5	2,0		20	0,5	
	ε3/ε3	147	2,0		55	2,3		92	2,0	

APOE ε2/ε4 (n=2): 10,0 miesiący (tj. pacjent z WZJG 20,0; pacjent z ChLC: podaż leku przy rozpoznaniu); ε4/ε4 (n=2): 1,2 miesiąca (WZJG); ε2/ε2 przyjmował immunosupresję od momentu rozpoznania (ChLC).

Analiza związku polimorfizmów z koniecznością stosowania leczenia biologicznego

Nie zaobserwowano różnic w częstości stosowania leczenia biologicznego w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*.

Tabela 54. Leczenie biologiczne zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	%	p	Leczenie biologiczne w wywiadzie					
					WZJG			ChLC		
					n	%	p	n	%	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA n=100	50	50,0	0,1294	14	35,0	0,2000	36	60,0	0,5753
	AG n=152	58	38,2		17	23,6		41	51,3	
	GG n=59	37	62,7		4	16,0		18	52,9	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT n=25	10	40,0	0,3405	1	11,1	0,3869	9	56,3	0,6902
	CT n=136	51	37,5		15	23,1		36	50,7	
	CC n=150	69	46,0		19	30,2		50	57,5	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT n=50	17	34,0	0,4177	5	25,0	0,9782	12	40,0	0,1989
	CT n=157	66	42,0		18	25,0		48	56,5	
	CC n=104	47	45,2		12	26,7		35	59,3	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	$\epsilon 3/\epsilon 4$ n=69	28	40,6	0,9507	12	34,3	0,3486	16	47,1	0,4154
	$\epsilon 2/\epsilon 3$ n=41	17	41,5		3	23,1		14	50,0	
	$\epsilon 3/\epsilon 3$ n=192	82	42,7		18	21,7		64	58,7	

APOE $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=3): 0, 0,0%; $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=4): 2, 50,0% (WZJG); $\epsilon 2/\epsilon 2$ (n=2): 1, 50,0% (ChLC)

Wśród pacjentów z NZJ i allelem G+ polimorfizmu *DMBT1* zaobserwowano mniejszą częstość stosowania leczenia biologicznego (AG/GG 37,9% vs. AA 50,0%; p=0,0493).

Nie zaobserwowano różnic w wieku podaży pierwszego leczenia biologicznego w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, a także w grupach WZJG i ChLC. Nie

zaobserwowano różnic w wieku również w zależności od alleli *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, zarówno dla NZJ jak i w grupach WZJG i ChLC.

Tabela 55. Mediana wieku podaży pierwszego leczenia biologicznego zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	lata	p	Wiek podaży pierwszego leczenia biologicznego					
					WZJG			ChLC		
					n	lata	p	n	lata	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	48	13,1	0,7775	13	10,4	0,2464	35	13,5	0,9663
	AG	57	13,6		17	13,3		40	13,9	
	GG	21	14,0		4	8,0		17	14,2	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	9	14,2	0,9256	1	10,7	0,8720	8	14,2	0,9172
	CT	51	13,3		15	12,1		36	14,0	
	CC	66	13,5		18	11,7		48	13,5	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	16	14,5	0,5098	4	9,2	0,7988	12	14,8	0,2686
	CT	65	13,3		18	12,1		47	13,4	
	CC	40	13,7		12	12,0		33	14,1	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	$\epsilon 3/\epsilon 4$	27	13,3	0,4220	11	10,7	0,1369	16	14,1	0,7057
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	16	14,0		3	15,7		13	13,9	
	$\epsilon 3/\epsilon 3$	80	13,3		18	12,1		62	13,5	

APOE $\epsilon 2/\epsilon 4$: brak leczenia biologicznego; $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=2): 8,8 lat (WZJG); $\epsilon 2/\epsilon 2$: 8,9 lat (ChLC)

Nie zaobserwowano różnic w czasie od rozpoznania do podaży pierwszego leczenia biologicznego w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*.

Tabela 56. Mediana czasu do podaży pierwszego leczenia biologicznego zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	msc	p	Czas od rozpoznania do podaży pierwszego leczenia biologicznego					
					WZJG			ChLC		
					n	msc	p	n	msc	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	48	13,5	0,1156	13	25,0	0,3180	35	11,7	0,1031
	AG	57	12,0		17	11,0		40	12,1	
	GG	21	25,1		4	20,6		17	25,1	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	9	20,3	0,2940	1	29,0	0,2337	8	19,6	0,0754
	CT	51	14,6		15	11,0		36	21,9	
	CC	66	12,9		18	19,5		48	10,5	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	16	9,5	0,6534	4	8,1	0,1259	12	9,5	0,9351
	CT	65	14,1		18	19,8		47	14,1	
	CC	45	12,0		12	10,1		33	14,5	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	27	12,4	0,6133	11	9,6	0,6689	16	16,7	0,5560
	ε2/ε3	16	15,9		3	14,6		13	16,3	
	ε3/ε3	80	12,6		18	13,6		62	12,1	

APOE ε4/ε4 (n=2): 18,6 miesięcy (WZJG); ε2/ε2: 48,6 miesięcy (ChLC).

Pacjenci z ChLC różnili się w czasie od rozpoznania do podaży pierwszego leczenia biologicznego w zależności od allelu *DMBT1* rs2981745 (TT/CT 14,3 (5,6-26,8) vs. CC 13,5 (4,2-29,8); p=0,0234) oraz allelu rs2981804 (AA/AG 12,0 (4,1-25,9) vs. GG 25,1 (12,4-44,3); p=0,04113). Ogółem pacjenci z NZJ i allelem A+ mieli włączone leczenie biologiczne znacznie wcześniej (AA/AG 12,0 (5,2-26,0) vs. GG 25,1 (12,2-44,0); p=0,0383).

Analiza związku polimorfizmów ze stosowanym leczeniem chirurgicznym

Nie zaobserwowano różnic w częstości stosowania leczenia chirurgicznego w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, także w grupach WZJG i ChLC. Nie zaobserwowano różnic w częstości stosowania leczenia chirurgicznego w zależności od allelu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, także w grupach WZJG i ChLC.

Tabela 57. Leczenie chirurgiczne zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	%	p	Leczenie chirurgiczne w wywiadzie					
					WZJG			ChLC		
					n	%	p	n	%	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA n=100	12	12,0	0,3263	1	2,5	0,7068	11	18,3	0,4402
	AG n=152	12	8,6		2	2,8		11	13,8	
	GG n=59	3	5,0		0	0,0		3	8,8	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT n=25	2	8,0	0,3735	0	0,0	0,7351	2	12,5	0,5533
	CT n=136	9	6,6		1	1,5		8	11,3	
	CC n=150	17	11,3		2	3,2		15	17,2	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT n=50	6	12,0	0,4434	1	5,0	0,1811	5	16,7	0,8576
	CT n=157	11	7,0		0	0,0		11	12,9	
	CC n=104	11	10,6		2	4,4		9	15,3	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	$\epsilon 3/\epsilon 4$ n=69	8	11,6	0,5001	1	2,9	0,8352	7	20,6	0,3288
	$\epsilon 2/\epsilon 3$ n=41	2	4,9		0	0,0		2	7,1	
	$\epsilon 3/\epsilon 3$ n=192	18	9,4		2	2,4		16	14,7	

APOE $\epsilon 2/\epsilon 4$ (n=3): 0; $\epsilon 4/\epsilon 4$ (n=4): 0; $\epsilon 2/\epsilon 2$: (n=2): 0

Nie zaobserwowano różnic w czasie od rozpoznania do pierwszej interwencji chirurgicznej w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, także w grupach WZJG i ChLC, również zależnie od alleli badanych polimorfizmów.

Tabela 58. Mediana czasu do pierwszej interwencji chirurgicznej w zależności od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	msc	p	Mediana czasu od rozpoznania do pierwszej interwencji chirurgicznej					
					WZJG			ChLC		
					n	msc	p	n	msc	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	12	7,9	0,2754	1	0,9	1,000	11	8,0	0,5118
	AG	13	29,1		3	28,7		10	32,1	
	GG	3	11,6		0	0		3	11,6	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	2	5,8	0,3430	0	0	1,000	2	5,8	0,5857
	CT	9	28,7		2	33,0		7	27,0	
	CC	17	5,8		2	8,8		15	12,0	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	6	8,3	0,5933	1	16,7	1,000	5	0,0	0,5293
	CT	11	23,1		0	0		11	23,1	
	CC	11	28,7		3	28,7		8	23,3	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	9	23,1	1,0000	2	19,1	1,000	7	23,1	1,0000
	ε2/ε3	2	2,3		0	0		2	6,0	
	ε3/ε3	17	28,7		2	22,7		15	29,1	

Nie zaobserwowano różnic w wieku pierwszej interwencji chirurgicznej w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, także w grupach WZJG i ChLC.

Tabela 59. Wiek pierwszej interwencji chirurgicznej zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	msc	p	Mediana wieku pierwszej interwencji chirurgicznej					
					WZJG			ChLC		
					n	msc	p	n	msc	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	12	14,4	0,2368	1	15,6	1,0000	11	14,3	0,1702
	AG	12	13,9		2	12,0		10	13,3	
	GG	3	15,7		0	0		3	15,7	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	2	15,8	0,2834	0	0	1,0000	2	15,8	0,0593
	CT	11	14,7		1	17,1		7	14,8	
	CC	19	13,5		2	11,2		15	13,5	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	6	14,1	0,5706	1	6,8	1,0000	5	14,6	0,8574
	CT	11	13,4		0	0		11	13,4	
	CC	10	14,6		2	16,3		8	14,4	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	8	15,2	1,0000	1	15,6	1,0000	7	14,9	1,0000
	ε2/ε3	2	11,3		0	0		2	11,3	
	ε3/ε3	17	14,5		2	12,0		15	14,5	

Zaobserwowano różny wiek pierwszej interwencji chirurgicznej u pacjentów z ChLC, zależnie od allelu *DMBT1* rs2981745 (TT/CT 14,4 (13,4-15,4) vs. CC 14,0 (11,6-15,3); p=0,0406). U pacjentów z NZJ i allelem *APOE* 2+ (n=4) wiek pierwszej interwencji chirurgicznej był mniejszy od innych pacjentów (n=28) (2+ 9,5 (8,6-10,5) vs. inni 14,5 (12,9-15,6); p=0,0180).

Analiza związku badanych polimorfizmów z wybranymi parametrami opisującymi ciężkość przebiegu choroby

Liczba hospitalizacji

Nie zaobserwowano różnic w liczbie hospitalizacji z powodu zaostrzenia w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, także w grupach WZJG i ChLC, również w zależności od allelu badanych polimorfizmów. Wyjątek stanowili pacjenci z ChLC i allelem C+ *SFTPD* (CC/CT 1 (1-2) vs. TT 2 (1-2); p=0,0289).

Tabela 60. Liczba przebytych hospitalizacji z powodu zaostrzenia (mediana) zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia	p	Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia					
					WZJG			ChLC		
					n	Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia	p	n	Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	84	1,0	0,3277	32	1,00	0,5883	52	1,0	0,5472
	AG	129	2,0		61	2,00		68	1,5	
	GG	54	1,0		24	1,00		30	1,5	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	22	1,0	0,3077	8	1,0	0,5471	14	1,0	0,5422
	CT	118	2,0		56	2,0		62	2,0	
	CC	127	1,0		53	2,0		74	1,0	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	39	1,0	0,0864	14	2,0	0,6414	25	1,0	0,0575
	CT	140	2,0		66	2,0		74	2,0	
	CC	88	1,0		37	1,0		51	1,0	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	60	1,5	0,4427	30	2,0	0,3399	30	1,0	0,9488
	ε2/ε3	36	1,0		11	1,0		25	1,0	
	ε3/ε3	164	2,0		72	2,0		92	1,0	

APOE ε2/ε4 (n=3): 1 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 3,5; pacjent z ChLC: 1,0); ε2/ε2 (n=1): 1 (ChLC); ε4/ε4 (n=3): 1 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 3,0; pacjent z ChLC: 1)

Nie zaobserwowano różnic w liczbie hospitalizacji z powodu zaostrzenia na rok trwania choroby w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, również w grupach WZJG i ChLC i w zależności od allelu badanego polimorfizmu.

Tabela 61. Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia na rok trwania choroby (mediana) zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok	p	Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok					
					WZJG			ChLC		
					n	Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok	p	n	Liczba hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	60	0,5	0,6072	22	0,6	0,9496	38	0,4	0,6644
	AG	98	0,6		45	0,7		53	0,6	
	GG	41	0,6		16	0,9		25	0,6	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	16	0,7	0,9171	4	0,6	0,7901	12	0,8	0,6706
	CT	94	0,6		43	0,6		51	0,5	
	CC	89	0,6		36	0,7		53	0,5	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	27	0,6	0,5699	9	1,3	0,4227	18	0,4	0,2562
	CT	108	0,6		50	0,6		58	0,6	
	CC	64	0,6		24	0,7		40	0,5	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	45	0,6	0,4828	20	0,9	0,4786	25	0,4	0,8768
	ε2/ε3	25	0,4		8	0,4		17	0,6	
	ε3/ε3	122	0,6		51	0,6		71	0,5	

APOE ε2/ε4 (n=3): 0,7 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 0,7; pacjent z ChLC: 0,3); ε2/ε2 (n=1): 0,2 (ChLC); ε4/ε4 (n=3): 0,2 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 0,8; pacjent z ChLC: 0,7).

Liczba dni hospitalizacji

Nie zaobserwowano różnic w liczbie dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* również w grupach WZJG i ChLC i w zależności od allelu badanego polimorfizmu.

Tabela 62. Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia (mediana) zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia	p	Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia					
					WZJG			ChLC		
					n	Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia	p	n	Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	83	10,0	0,9806	32	9,5	0,8314	51	12,0	0,9425
	AG	126	13,0		60	15,0		66	12,0	
	GG	53	8,0		23	11,0		30	7,5	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	22	7,0	0,7899	8	9,5	0,8646	14	6,5	0,7875
	CT	115	12,0		54	14,0		61	12,0	
	CC	125	11,0		53	10,0		72	11,5	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	37	10,0	0,4710	13	18,0	0,7960	24	7,5	0,2151
	CT	139	14,0		65	14,0		74	13,5	
	CC	86	10,0		37	11,0		49	10,0	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	57	13,0	0,6534	29	18,0	0,3935	28	9,5	0,8436
	ε2/ε3	36	9,5		11	6,0		25	10,0	
	ε3/ε3	162	12,0		71	12,0		91	12,0	

APOE ε2/ε4 (n=3): 7 dni (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 17,5 ; pacjent z ChLC: 7); ε2/ε2 (n=1): 5 dni (ChLC); ε4/ε4 (n=3): 14 dni (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 43 dni; pacjent z ChLC: 14 dni).

Nie zaobserwowano różnic w liczbie dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia na rok trwania choroby w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* również w grupach WZJG i ChLC.

Tabela 63. Liczba dni przebytych hospitalizacji z powodu zaostrzenia na rok trwania choroby (mediana) zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok	p	Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok					
					WZJG			ChLC		
					n	Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok	p	n	Liczba dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia/rok	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	60	4,4	0,9731	22	5,7	0,9723	38	3,7	0,9883
	AG	98	4,8		45	5,3		53	4,8	
	GG	41	4,6		16	5,0		25	3,5	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	16	5,5	0,8172	4	5,5	0,5430	12	4,4	0,9861
	CT	94	4,5		43	4,6		51	4,4	
	CC	89	4,7		36	6,2		53	3,8	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	27	5,7	0,4665	9	9,7	0,2352	18	2,7	0,5406
	CT	108	5,1		50	5,3		58	4,9	
	CC	64	3,8		24	4,0		40	3,7	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	45	6,0	0,2109	20	7,7	0,1848	25	3,1	0,4326
	ε2/ε3	25	3,5		8	3,8		17	3,5	
	ε3/ε3	122	4,8		51	4,8		71	4,8	

APOE ε2/ε4 (n=3): 2,4 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 2,9; pacjent z ChLC: 2,4); ε2/ε2 (n=1): 0,8 (ChLC); ε4/ε4 (n=3): 9,4 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 11,4; pacjent z ChLC: 9,4).

Pacjenci z NZJ i allelem *APOE* 2+ (n=29) mieli mniejszą liczbę dni hospitalizacji z powodu zaostrzenia na rok trwania choroby od innych pacjentów (n=169) (2+ 3,1 (1,0-4,5) vs. inni 5,0 (1,6-8,4); p=0,0390).

Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania

Nie zaobserwowano różnic w liczbie zaostrzeń od czasu rozpoznania w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, również w zależności od allelu badanego polimorfizmu oraz w grupach WZJG i ChLC.

Tabela 64. Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania (mediana) zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania	p	Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania					
					WZJG			ChLC		
					n	Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania	p	n	Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	80	1,0	0,7397	31	1,0	0,7637	49	1,0	0,9488
	AG	126	2,0		59	2,0		67	2,0	
	GG	54	1,0		24	1,0		30	1,0	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	22	1,0	0,6546	8	1,0	0,4846	14	1,0	0,9845
	CT	117	2,0		55	2,0		62	2,0	
	CC	121	1,0		51	2,0		70	1,0	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	37	1,0	0,1654	13	2,0	0,6899	24	1,0	0,1247
	CT	138	2,0		66	2,0		72	2,0	
	CC	85	1,0		35	1,0		50	1,5	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	56	2,0	0,2895	28	1,5	0,3553	28	2,0	0,7322
	ε2/ε3	3	1,0		11	1,0		25	1,0	
	ε3/ε3	161	2,0		71	2,0		90	2,0	

APOE ε2/ε4 (n=3): 1 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 3,5; pacjent z ChLC: 1); ε2/ε2 (n=1): 1 (ChLC); ε4/ε4 (n=3): 2 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 3,5; pacjent z ChLC: 1)

Nie zaobserwowano różnic w liczbie zaostrzeń od czasu rozpoznania na rok trwania choroby w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*, również w zależności od allelu badanego polimorfizmu oraz w grupach WZJG i ChLC.

Tabela 65. Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania na rok trwania choroby (mediana) zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania/rok	p	Liczba zaostrzeń od czasu rozpoznania/rok					
					WZJG			ChLC		
					n	Liczba zaostrzeń od rozpoznania/rok	p	n	Liczba zaostrzeń od rozpoznania/rok	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	60	0,5	0,6793	22	0,6	0,8655	38	0,4	0,7904
	AG	98	0,6		45	0,6		53	0,6	
	GG	41	0,6		16	0,9		25	0,4	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	16	0,6	0,8954	4	0,6	0,8877	12	0,6	0,9152
	CT	94	0,6		43	0,6		51	0,5	
	CC	89	0,6		36	0,7		53	0,5	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	27	0,5	0,8514	9	1,2	0,6619	18	0,4	0,6093
	CT	108	0,6		50	0,6		58	0,5	
	CC	64	0,6		24	0,7		40	0,6	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	45	0,6	0,7740	20	0,9	0,5779	25	0,4	0,7565
	ε2/ε3	25	0,4		8	0,4		17	0,6	
	ε3/ε3	122	0,6		51	0,6		71	0,5	

APOE ε2/ε4 (n=3): 0,7 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 0,7; pacjent z ChLC: 0,3); ε2/ε2 (n=1): wynosiła 0,2 (ChLC);
ε4/ε4 (n=3): 0,7 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 0,9; pacjent z ChLC: 0,7)

Nie zaobserwowano różnic w liczbie ciężkich rzutów od czasu rozpoznania w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*.

Tabela 66. Liczba ciężkich rzutów od czasu rozpoznania (mediana) zależnie od genotypu badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Liczba ciężkich rzutów od rozpoznania	p	Liczba ciężkich rzutów od czasu rozpoznania					
					WZJG			ChLC		
					n	Liczba ciężkich rzutów od czasu rozpoznania	p	n	Liczba ciężkich rzutów od czasu rozpoznania	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	77	1,0	0,1792	31	1,0	0,3224	46	1,0	0,0935
	AG	125	1,0		59	0,0		66	1,0	
	GG	50	1,0		21	1,0		29	0,0	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	21	0,0	0,1982	7	0,0	0,8299	14	0,0	0,0799
	CT	114	1,0		53	1,0		61	1,0	
	CC	117	1,0		51	1,0		66	1,0	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	37	1,0	0,2607	13	1,0	0,1620	24	1,0	0,6034
	CT	131	1,0		62	1,0		69	1,0	
	CC	84	1,0		36	0,0		48	1,0	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	53	1,0	0,4094	27	1,0	0,8349	26	1,0	0,3103
	ε2/ε3	33	0,0		10	0,5		23	0,0	
	ε3/ε3	159	1,0		70	0,5		89	1,0	

APOE ε2/ε4 (n=3): 0 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 1; pacjent z ChLC: 0); ε2/ε2 (n=1): 0 (ChLC); ε4/ε4 (n=3): 1 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 2,5; pacjent z ChLC: 1)

Pacjenci z ChLC i allelem T+ *DMBT1* rs2981745 mieli mniej ciężkich rzutów od czasu rozpoznania od innych pacjentów (TT/CT 1 (0-1) vs. CC 1 (0-2); p=0,0438).

Nie zaobserwowano różnic w liczbie ciężkich rzutów od czasu rozpoznania na rok trwania choroby w zależności od genotypu *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE*.

Tabela 67. Liczba ciężkich rzutów od czasu rozpoznania (mediana) na rok trwania choroby zależnie od genotypów badanych polimorfizmów.

Gen SNP	Genotyp	n	Liczba ciężkich rzutów od czasu rozpoznania/rok	p	Liczba ciężkich rzutów od czasu rozpoznania/rok					
					WZJG			ChLC		
					n	Liczba ciężkich rzutów od rozpoznania/rok	p	n	Liczba ciężkich rzutów od rozpoznania/rok	p
<i>DMBT1</i> rs2981804	AA	60	0,3	0,2242	22	0,2	0,9283	38	0,3	0,1055
	AG	98	0,2		45	0,0		53	0,2	
	GG	41	0,0		16	0,1		25	0,0	
<i>DMBT1</i> rs2981745	TT	16	0,0	0,0679	4	0,0	0,3974	12	0,0	0,1372
	CT	94	0,1		43	0,0		51	0,2	
	CC	89	0,3		36	0,2		53	0,3	
<i>SFTPD</i> rs2243639	TT	27	0,2	0,8032	9	0,2	0,6778	18	0,2	0,9720
	CT	108	0,2		50	0,1		58	0,2	
	CC	64	0,2		24	0,1		40	0,2	
<i>APOE</i> rs7412 rs429358	ε3/ε4	45	0,3	0,4042	20	0,3	0,6495	25	0,2	0,3319
	ε2/ε3	25	0,0		8	0,1		17	0,0	
	ε3/ε3	122	0,2		51	0,0		71	0,3	

APOE ε2/ε4 (n=3): 0 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 0,1; pacjent z ChLC: 0); ε2/ε2 (n=1): 0 (ChLC); ε4/ε4 (n=3): 0,7 (tj. dwóch pacjentów z WZJG: 0,7; pacjent z ChLC: 0,7)

Pacjenci z NZJ i allelem C+ *DMBT1* rs2981745 mieli więcej ciężkich rzutów na rok trwania choroby od pozostałych pacjentów (CC/CT 0,2 (0,0-0,5) vs. TT 0,0 (0,0-0,3); p=0,0373). Pacjenci z ChLC i allelem A+ *DMBT1* rs2981804 (AA/AG 0,3 (0,0-0,6) vs. GG 0,0 (0,0-0,3); p=0,0390).

***Analiza związku badanych polimorfizmów z subiektywnymi doznaniemii
psychofizycznymi w trakcie przebiegu choroby przewlekłej***

Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w rozkładzie odpowiedzi dotyczących subiektywnego odczucia bólu i niepokoju oraz stopnia ograniczenia w kontaktach koleżeńskich i zajęciach szkolnych w zależności od prezentowanego genotypu *APOE* (Tabela 68.), *DMBT1* (Tabela 69. i 70.) i *SFTPD* (Tabela 71.).

Pacjenci z WZJG i allelem *APOE* 2+ mieli mniejszą punktację na skali bólu w momencie rozpoznania niż pozostali pacjenci (2+ 4 (2-7) vs. inni 6 (4-8); $p=0,0300$). Pacjenci z WZJG i allelem *APOE* 3+ wykazywali mniej ograniczeń w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie najcięższego rzuty niż pozostali pacjenci (3+ 8 (3-10) vs. 10 (8,5-10); $p=0,0261$).

Pacjenci z NZJ i allelem A+ polimorfizmu *DMBT1* wykazywali większą punktację na skali lęku w momencie diagnozy (AA/AG 5 (3-8) vs. GG 4 (2-7); $p=0,0373$). Również pacjenci z WZJG i allelem A+ wykazywali większy lęk przy rozpoznaniu (AA/AG 5 (3-8) vs. GG 4 (2-7); $p=0,0293$) a także w momencie rekrutacji (AA/AG 2 (1-5) vs. 1,5 (0-3); $p=0,0355$).

Pacjenci z ChLC i allelem G+ wykazywali większy lęk w momencie rekrutacji od pozostałych pacjentów (GG/AG 2 (1-3) vs. 1 (0-4); $p=0,0456$).

Pacjenci z WZJG i allelem T+ *SFTPD* wykazywali mniejszy ból w momencie rekrutacji od pozostałych pacjentów (TT/CT 1 (0-3) vs. CC 1,5 (0-4); $p=0,0357$).

Tabela 68. Subiektywne doznania psychofizyczne u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w zależności od prezentowanego genotypu *APOE* (0 – brak efektu, 10 –maksymalny efekt).

Subiektywne doznania psychofizyczne [moda]	Genotyp <i>APOE</i>						Wartość P
	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 4/\epsilon 4$	
n	2	38	3	176	60	4	0,3234
Ból w momencie rozpoznania	6	4	4	6	7	0	
n	2	38	3	174	61	4	0,4953
Ból w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	9	10	4	9	10	0	
n	2	38	3	176	62	4	0,8301
Ból w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	0	0	0	
n	2	38	2	175	62	4	0,9527
Niepokój w momencie rozpoznania	4	2	4	5	8	3	
n	2	38	3	176	62	4	0,8088
Niepokój w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	6	7	2	8	8	6	
n	2	38	3	176	62	4	0,6877
Niepokój w momencie rekrutacji do badania	3	0	0	0	1	0	
n	2	38	3	175	62	4	0,6879
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w momencie diagnozy	3	0	1	0	0	0	
n	2	38	3	176	62	4	0,4134
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w okresie największego natężenia objawów	0	0	2	0	0	9	
n	2	38	3	176	62	4	0,8516
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	0	0	0	
n	2	38	3	174	61	4	0,6633
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie rozpoznania	1	3	3	0	10	0	
n	2	38	3	176	61	4	0,6619
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w okresie największego natężenia objawów	2	10	10	10	10	10	
n	2	38	3	176	62	4	0,8419
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	0	0	4	

Nie obserwowano różnic w grupach ChLC i WZJG.

Tabela 69. Subiektywne doznania psychofizyczne u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w zależności od prezentowanego genotypu *DMBT1* rs2981804 (0 – brak efektu, 10 – maksymalny efekt).

	<i>DMBT1</i> rs2981804			Wartość p
	AA	AG	GG	
n	87	140	56	0,3742
Ból w momencie rozpoznania	7	8	6	
n	87	139	56	0,2976
Ból w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	10	10	10	
n	88	140	57	0,8940
Ból w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	
n	88	138	57	0,0607
Niepokój w momencie rozpoznania	4	3	8	
n	88	140	57	0,1087
Niepokój w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	8	8	8	
n	88	140	57	0,1759
Niepokój w momencie rekrutacji do badania	0	0	1	
n	88	139	57	0,2818
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w momencie diagnozy	0	0	0	
n	88	140	57	0,3840
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w okresie największego natężenia objawów	0	0	10	
n	88	140	57	0,4652
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	
n	87	138	57	0,2820
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie rozpoznania	0	10	8	
n	88	139	57	0,3896
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w okresie największego natężenia objawów	10	10	10	
n	88	140	57	0,2923
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	

Pacjenci z ChLC różnili się punktacją na skali lęku w momencie rozpoznania ($p=0,0346$) i w momencie najcięższego rzutu ($p=0,0351$) w zależności od genotypu *DMBT1* rs2981804. Pacjenci z WZJG różnili się punktacją na skali lęku w momencie rekrutacji ($p=0,0338$).

Tabela 70. Subiektywne doznania psychofizyczne u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w zależności od prezentowanego genotypu DMBT1 rs2981745 (0 – brak efektu, 10 – maksymalny efekt).

	<i>DMBT1</i> rs2981745			Wartość p
	CC	CT	TT	
n	136	123	24	0,1116
Ból w momencie rozpoznania	7	7	10	
n	136	122	24	0,2357
Ból w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	9	10	10	
n	137	123	25	0,8701
Ból w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	
n	136	122	25	0,8395
Niepokój w momencie rozpoznania	4	7	2	
n	137	123	25	0,2681
Niepokój w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	8	8	6	
n	137	123	25	0,5234
Niepokój w momencie rekrutacji do badania	0	0	1	
n	136	123	25	0,4413
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w momencie diagnozy	0	0	0	
n	137	123	25	0,5058
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w okresie największego natężenia objawów	0	10	10	
n	137	123	25	0,9824
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	
n	136	121	25	0,9807
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie rozpoznania	0	10	0	
n	136	123	25	0,7378
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w okresie największego natężenia objawów	10	10	10	
n	137	123	25	0,4758
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie rekrutacji do badania	0	0	1	

Nie obserwowano różnic w grupach ChLC i WZJG.

Tabela 71. Subiektywne doznania psychofizyczne u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w zależności od prezentowanego genotypu SFTPD rs2243639 (0 – brak efektu, 10 – maksymalny efekt).

	<i>SFTPD</i> rs2243639			Wartość p
	CC	CT	TT	
n	96	144	43	0,5754
Ból w momencie rozpoznania	8	7	7	
n	95	144	43	0,9533
Ból w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	8	10	10	
n	96	146	43	0,2733
Ból w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	
n	96	145	42	0,6308
Niepokój w momencie rozpoznania	3	7	7	
n	96	146	43	0,1756
Niepokój w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości	7	8	8	
n	96	146	43	0,9360
Niepokój w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	
n	96	145	43	0,5237
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w momencie diagnozy	0	0	0	
n	96	146	43	0,9421
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w okresie największego natężenia objawów	0	0	10	
n	96	146	43	0,6954
Ograniczenia w kontaktach koleżeńskich w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	
n	96	144	42	0,5217
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie rozpoznania	10	3	0	
n	96	145	43	0,9730
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w okresie największego natężenia objawów	10	10	10	
n	96	146	43	0,6522
Ograniczenia w uczestnictwie w zajęciach szkolnych w momencie rekrutacji do badania	0	0	0	

Nie obserwowano różnic w grupach ChLC i WZJG.

4.2. BADANIE DOTYCZĄCE WZGLĘDNEJ DŁUGOŚCI TELOMERÓW W MUKOWISCYDOZIE

4.2.1. Charakterystyka badanych grup

Badanie obejmowało 34 pacjentów z mukowiscydozą (dziewczynki n=15, chłopcy n= 19) i 36 zdrowych osób z grupy kontrolnej (dziewczynki n=14, chłopcy n=22) (Tabela 72).

Tabela 72. Charakterystyka epidemiologiczna badanych grup.

	Mukowiscydoza	Kontrola
Liczebność	n=34	n=36
Chłopcy	19	22
Dziewczynki	15	14
Chłopcy:dziewczynki	1,27:1	1,57:1
Wiek [lata]		
$\bar{x} \pm SD$	7,6 \pm 1,5	7,8 \pm 1,5
Mediana	7,5	7,9
(1-3 kwartyl)	(6,2-8,7)	(6,5-9,2)

U wszystkich pacjentów określono mutacje w jednym lub obu allelach genu *CFTR* (Tabela 73.). Homozygotami F508del było 8 (23,5%) pacjentów. Obecność tej mutacji w jednym allelu wykazano u 21 (61,8%) chorych.

Tabela 73. Częstość występowania poszczególnych genotypów u chorych na mukowiscydozę.

Mutacja	n	%
508del/F508del	8	23,5
F508del/dele2,3 (21kb)	3	8,8
F508del/2184insA	2	5,9
F508del/1717-1G>A	2	5,9
F508del/-	2	5,9
F508del/T582I	1	2,9
F508del/53+2T>C	1	2,9
F508del/G85E	1	2,9
F508del/G542X	1	2,9
F508del/E92K	1	2,9
F508del/2143delT	1	2,9
F508del/3849+10kbC>T	1	2,9
F508del/296+1G>T	1	2,9
F508del/R553X	1	2,9
F508del/2183AA>G	1	2,9
F508del/R1102X	1	2,9
F508del/R347P	1	2,9
R553X/3849+10kbC>T	1	2,9
W1282X/dele2,3(21kb)	1	2,9
G542X/G542X	1	2,9
G542X/N1303K	1	2,9
2184insA/2789+2insA	1	2,9

4.2.2. Stan odżywienia uczestników badania

Tabela 74. Parametry antropometryczne chorych na mukowiscydozę i zdrowych dzieci.

Parametr $\bar{x} \pm SD$ Mediana (1 – 3 kwartyl)	Mukowiscydoza n=34	Kontrola n=36	Wartość p
Masa ciała [kg]	24,8±5,3 23,5 (21,9-27,3)	27,9±6,6 26,5 (22,3-32,5)	0,0591
Wysokość ciała [cm]	124,9±10,4 123,0 (118,0-133,0)	128,5±10,3 127,0 (122,5-136,0)	0,0949
BMI [kg/cm ²]	15,7±1,6 15,5 (14,9-16,6)	16,6±2,0 16,2 (15,5-17,5)	0,0477
Standaryzowana wartość masy ciała [z score]	-0,39±0,78 -0,63 ([-0,85]-0,07)	0,08±0,90 -0,06 ([-0,57]-0,63)	0,0200
Standaryzowana wartość wysokości ciała [z score]	-0,42±1,07 -0,44 ([-1,15]-0,13)	0,05±1,13 0,06 ([-0,60]-0,84)	0,0451
Standaryzowana wartość BMI [z score]	-0,27±0,77 -0,39 ([-0,81]-0,14)	0,09±0,81 -0,04 ([-0,45]-0,46)	0,0480

BMI – (ang. body mass index) wskaźnik masy ciała

4.2.3. Ekspresja kliniczna choroby

Ekspresję kliniczną mukowiscydozy przedstawiono w Tabelach 75 i 76. U żadnego z pacjentów nie stwierdzono marskości wątroby. U żadnego z badanych pacjentów nie zdiagnozowano cukrzycy.

Tabela 75. Ekspresja kliniczna choroby u pacjentów z mukowiscydozą – cechy ilościowe.

Parametr	n	Mediana (1-3 kwartył)
Stężenie elastazy 1 [µg/g]	34	15 (15-44)
Stężenie chlorków w pocie metodą konduktometryczną [mmol/l]	26	111 (99-115)
Stężenie chlorków w pocie metodą jonoforezy pilokarpinowej [mmol/l]	33	92 (77-107)
Wiek próby potowej [wartość dziesiętna]	33	0,2 (0,2-0,3)
FEV1 [%]	25	92 (79–104)

Tabela 76. Ekspresja kliniczna choroby u pacjentów z mukowiscydozą – cechy jakościowe.

Parametr	n (%)
Choroba wątroby związana z mukowiscydozą	22 (64,7)
Polipy nosowe	8 (23,5)
Przewlekłe zapalenie zatok	9 (26,5)
Niedrożność smółkowa	4 (11,8)
Niewydolność zewnętrznydzielnicza trzustki	27 (79,4)
Zakażenie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (2,9)
Objawy choroby refluksowej przełyku	2 (5,7)

Współwystępowanie innych chorób

Wśród innych chorób współwystępujących z mukowiscydozą najczęściej postawiano rozpoznanie alergii wziewnej i pokarmowej (3 pacjentów; 8,6%) oraz niedoczynności tarczycy (2 pacjentów; 5,7%).

Stosowane leczenie

Większość pacjentów przyjmowała enzymy trzustkowe (31; 91,2%) oraz leki gastroenterologiczne i suplementy diety (w tym kwas ursodezoksycholowy, inhibitory pompy protonowej, ornitynę, fosfolipidy, sybilinę, probiotyki) (31; 91,2%). Wszyscy

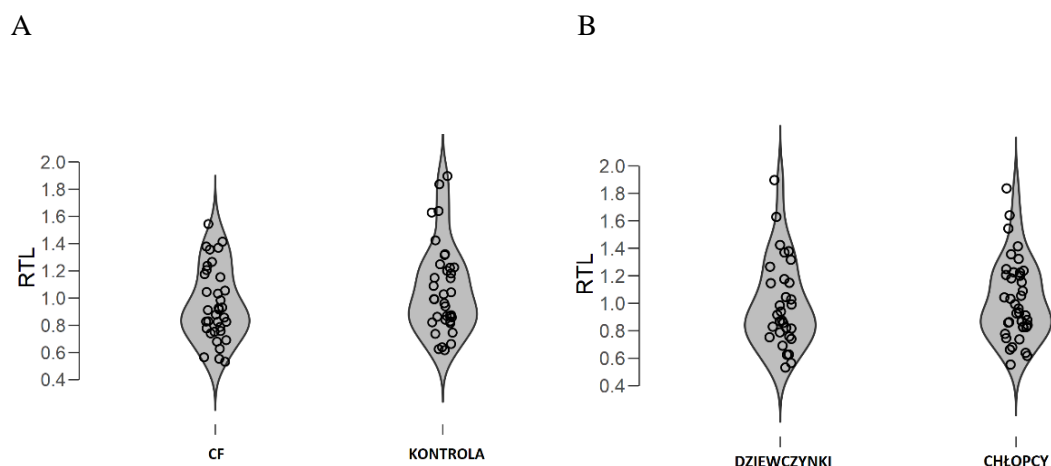
badani byli leczeni preparatem dornazy alfa oraz suplementowali witaminy rozpuszczalne w tłuszczach. Glikokortykosteroidy wziewne były podawane 13 (38,2%), a beta-mimetyki 30 (88,2%) pacjentom. Czterech pacjentów przyjmowało antybiotyki w ostatnim roku (11,8%).

4.2.4. Ocena ciężkości przebiegu mukowiscydozy

Częstość zaostrzeń choroby oskrzelowo-płucnej określona u 32 dzieci z mukowiscydozą wynosiła średnio 1,3 ($\pm 1,4$) rocznie (mediana: 1,0; 1-3 kwartył: 0,5-1,0). Dzieci w tej grupie wiekowej były hospitalizowane zarówno jednodniowo, jak i powyżej jednego dnia średnio 6 razy (odpowiednio $5,9 \pm 3,5$ i $5,5 \pm 5,0$). Mediana liczby hospitalizacji jednodniowych wynosiła 5 (1-3 kwartył: 4-7), a hospitalizacji wielodniowych 4 (1-3 kwartył: 2-8). Średnia liczba dni spędzonych w szpitalu dla pacjentów biorących udział w badaniu wynosiła 47 dni (mediana: 28 dni; 1-3 kwartył: 15-55 dni).

4.2.5. Względna długość telomerów a ekspresja mukowiscydozy i ciężkość jej przebiegu

Względna długość telomerów nie różniła się między pacjentami z mukowiscydozą a zdrowymi ochotnikami (mediana [1-3 kwartył]: 0,895 [0,763–1,129] vs. 0,992 [0,838–1,223]; $p=0,1585$) (Ryc. 13.)



Ryc. 13. Rozkład wartości względnych długości telomerów (RTL) u pacjentów z mukowiscydozą i zdrowych ochotników (A). Rozkład wartości względnych długości telomerów w zależności od płci (B).

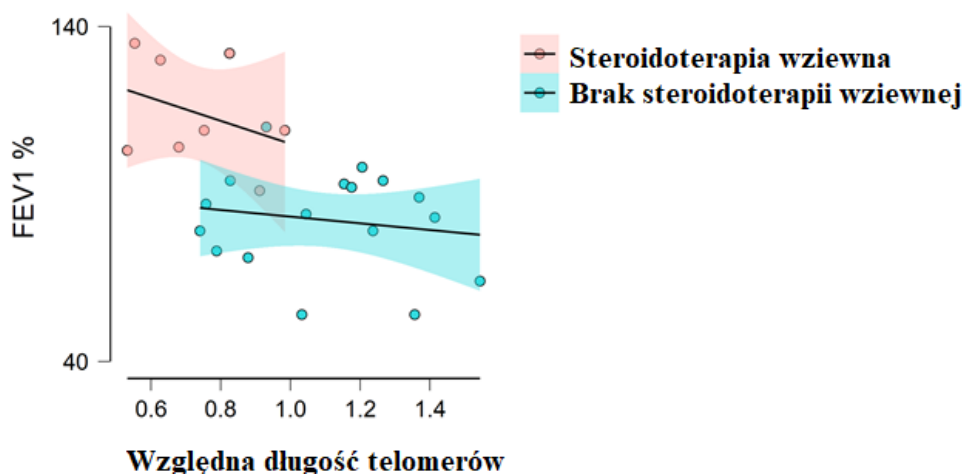
Nie zaobserwowano różnicy we względnej długości telomerów między dziewczynkami a chłopcami, zarówno dla wszystkich uczestników badania (dziewczynki: 0,895 (0,758–1,149) vs. chłopcy: 0,946 (0,826–1,214); $p=0,4369$), jak i w grupie pacjentów z CF (dziewczynki: 0,788 (0,691–1,045) vs. chłopcy: 0,927 (0,825–1,206); $p=0,1358$) oraz w grupie kontrolnej (dziewczynki: 0,901 (0,829–1,316) vs. chłopcy: 0,993 (0,841–1,223); $p=0,7850$).

Nie zaobserwowano różnicy we względnej długości telomerów w zależności od mutacji genu *CFTR* ani w zależności od badanych cech ekspresji klinicznej choroby (Tabela 77.).

Tabela 77. Względna długość telomerów w wydzielonych grupach o różnej ekspresji klinicznej choroby.

Parametr	n (%)	Względna długość telomerów mediana (1-3 kwartył)		Wartość p
		Tak	Nie	
Choroba wątroby związana z mukowiscydozą	22 (64,7)	0,914 (0,826-1,193)	0,822 (0,690-1,050)	0,3216
Polipy nosowe	8 (23,5)	0,827 (0,753-1,000)	0,914 (0,758-1,154)	0,5976
Przewlekłe zapalenie zatok	9 (26,5)	0,931 (0,777-1,033)	0,879 (0,758-1,154)	0,9378
Niedrożność smółkowa	4 (11,8)	0,971 (0,730-1,252)	0,895 (0,758-1,055)	0,8937
Niewydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki	27 (79,4)	0,957 (0,747-1,155)	0,912 (0,777-1,154)	0,8983
Objawy choroby refluksowej przełyku	2 (5,7)	0,769 (0,661-0,876)	0,895 (0,768-1,165)	0,4421
Homozygotyczność F508del	8 (23,5)	0,783 (0,688-1,114)	0,914 (0,826-1,129)	0,4285

Analiza korelacji Spearmana wykazała brak istotnych zależności między względną długością telomerów a wybranymi zmiennymi klinicznymi, z wyjątkiem zależności między RTL i FEV1%, jednak analiza kowariancji z uwzględnieniem stosowania glikokortykosteroidów wziewnych wykazała, że relacja nie była znacząca $F(1,22)=0,943$; $p=0,3420$, $\eta_p^2=0,041$ (Ryc. 14.).

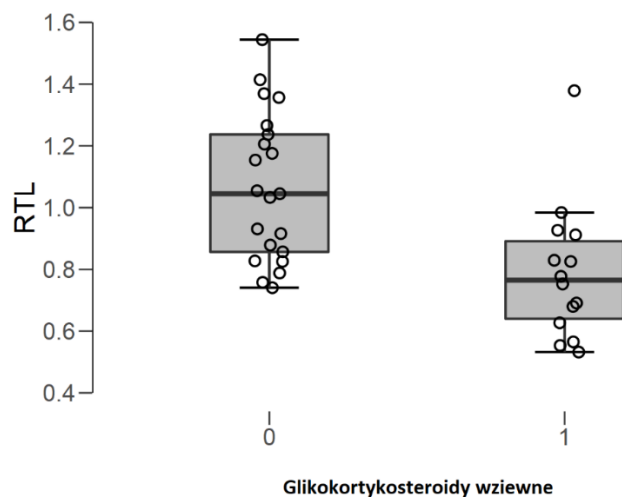


Ryc. 14. Analiza kowariancji z uwzględnieniem stosowania glikokortykosteroidoterapii wziewnej.

Tabela 78. Względna długość telomerów a wybrane zmienne ciągle oceniające ekspresję kliniczną choroby.

Zmienne	n (%)	Rho Spearmana	Wartość p
Stężenie anionów chloru w pocie metodą konduktometryczną [mmol/l]	26 (76,5)	0,19	0,3647
Stężenie anionów chloru w pocie metodą jonoforezy pilokarpinowej [mmol/l]	33 (97,1)	0,02	0,8970
Stężenie elastazy 1 w kale [μg/g]	34 (100,0)	-0,09	0,5977
FEV1 [%]	25 (73,5)	-0,50	0,0117

Pacjenci leczeni glikokortykosteroidoterapią wziewną (38,2%) mieli znacznie mniejszą wartość względnej długości telomerów w porównaniu do pacjentów bez tego leczenia (61,8%) ($p=0,0004$; mediana [1-3 kwartyli]: 0,753 [0,627-0,829] vs. 1,045 [0,857-1,237] (Ryc. 15.). Takich różnic nie zaobserwowano dla innych stosowanych form terapii (Tabela 79.).

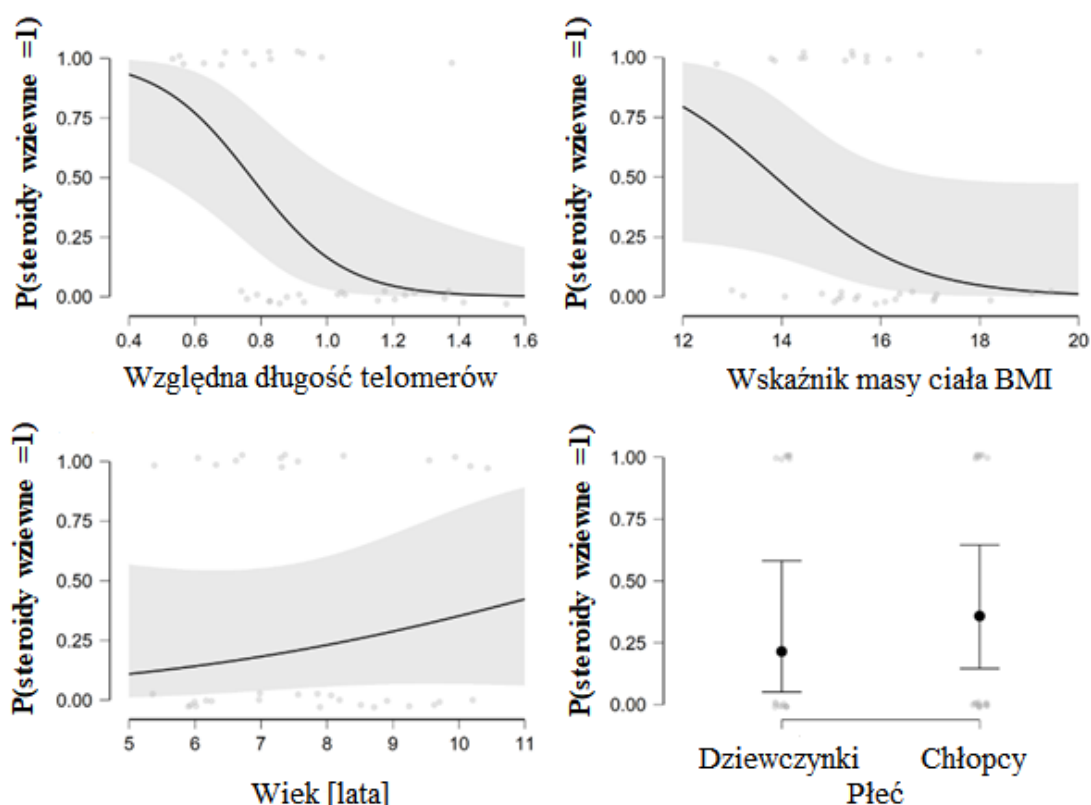


Ryc. 15. Wykres porównujący względną długość telomerów (RTL) u pacjentów przyjmujących glikokortykosteroidy wziewne i pacjentów bez tego leczenia.

Tabela 79. Względna długość telomerów w wydzielonych grupach pacjentów poddanych/nie poddanych określonej terapii.

Stosowane leczenie	n (%)	Względna długość telomerów		Wartość P
		Mediana (1-3 kwartryl)		
		Tak	Nie	
Enzymy trzustkowe	31 (91,2)	0,879 (0,758-1,154)	1,045 (0,753-1,266)	0,5847
Glikokortykosteroidy wziewne	13 (38,2)	0,753 (0,627-0,829)	1,045 (0,857-1,237)	0,0004
Beta-mimetyki	30 (88,2)	0,895 (0,758-1,154)	0,905 (0,789-1,199)	0,7893
Antybiotyki	4 (11,8)	0,929 (0,740-1,053)	0,868 (0,758-1,154)	1,0000
Leki gastroenterologiczne	31 (91,2)	0,912 (0,753-1,176)	0,857 (0,777-1,045)	0,9033

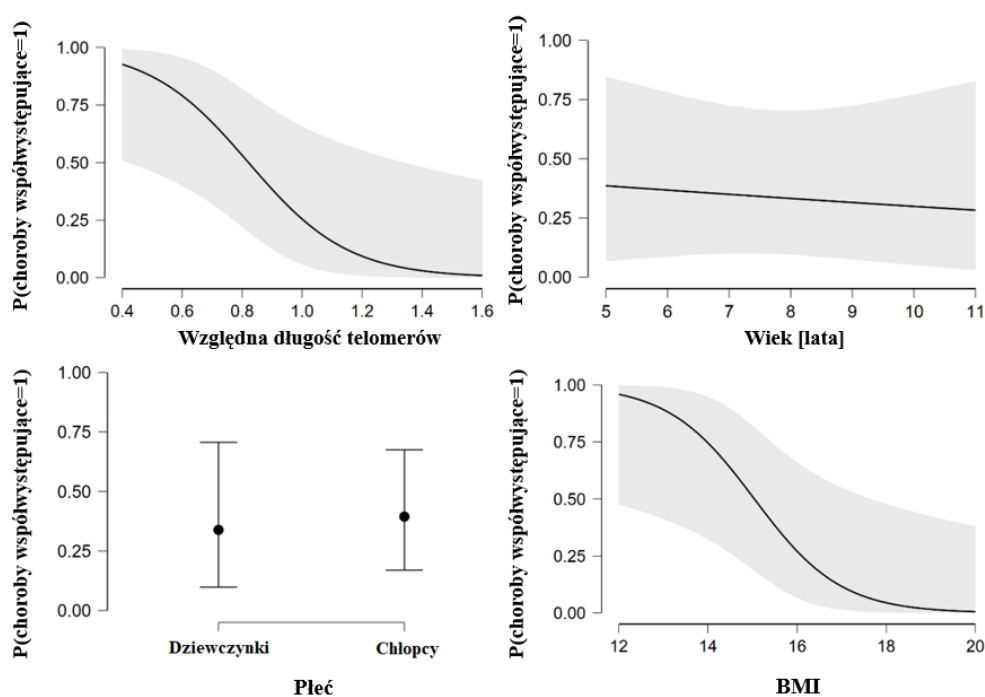
Regresja logistyczna oceniająca związek względnej długości telomerów z prawdopodobieństwem, że uczestnicy stosują określone leczenie (enzymy trzustkowe, glikokortykosteroidy wziewne, beta-mimetyki, antybiotyki, leki zapisane ze wskazań dotyczących przewodu pokarmowego) wykazała statystycznie istotny wynik dla glikokortykosteroidów wziewnych ($\chi^2(29) = 22,257$; $p < 0,0002$) po skorygowaniu dla wieku, płci i BMI (Ryc. 16.).



Ryc. 16. Model regresji logistycznej związku względnej długości telomerów (RTL) ze stosowaniem glikokortykosteroidów wziewnych z uwzględnieniem: wieku, płci i wskaźnika masy ciała BMI.

Regresja logistyczna oceniająca związek względnej długości telomerów z prawdopodobieństwem występowania wybranego fenotypu klinicznego (tj. niewydolność wnątrzwydzielnicza trzustki, choroba wątroby, polipy nosowe, przewlekłe zapalenie zatok, objawy choroby refluksowej przełyku, niedrożność smółkową, zakażenie *Pseudomonas aeruginosa*, mutacja F508del) a pacjentami nieprezentującymi danego fenotypu, nie wykazała występowania istotnych różnic.

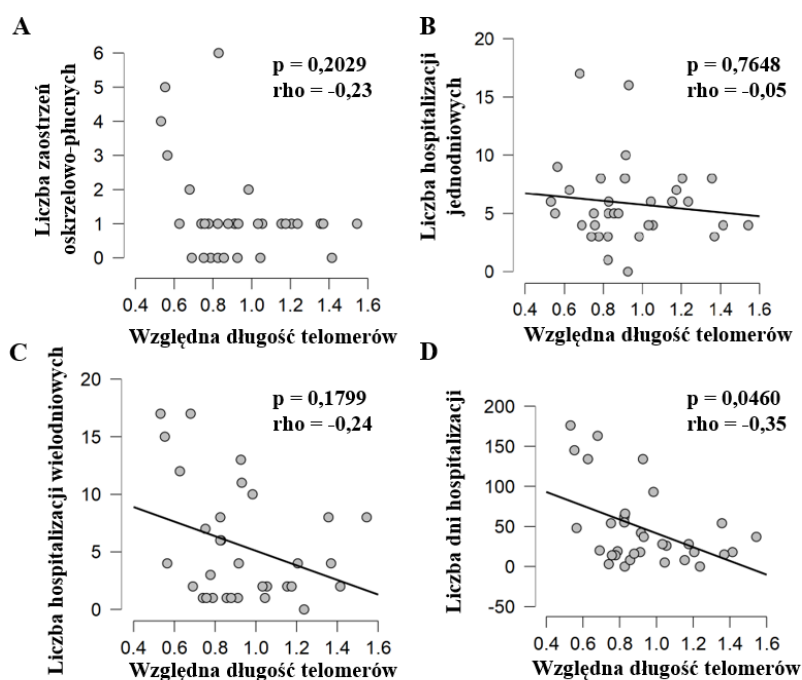
Pacjenci z chorobami współwystępującymi z mukowiscydozą wykazywali mniejszą względną długość telomerów (mediana [1-3 kwartyl]: 0,829 [0,685-0,921] vs. 1,044 [0,789-1,229]; $p=0,0429$). Związek względnej długości telomerów z chorobami współistniejącymi potwierdzono w modelu regresji logistycznej z uwzględnieniem wieku, płci i BMI [$\chi^2(28) = 15,260$, $p=0,0042$] (Ryc. 17.). Model poprawnie klasyfikował 80,0% przypadków.



Ryc. 17. Model regresji logistycznej związku względnej długości telomerów z obecnością chorób współwystępujących z mukowiscydozą z uwzględnieniem wieku, płci i wskaźnika masy ciała BMI.

Zaobserwowano istotną korelację między względną długością telomerów a liczbą dni hospitalizacji wielodniowych (Ryc. 18.)

Ryc. 18. Związek między względną długością telomerów a wybranymi parametrami oceniającymi ciężkość przebiegu mukowiscydozy.



Regresja liniowa z uwzględnieniem BMI i wieku wskazała na istotną zależność z liczbą hospitalizacji jednodniowych (Tabela 80.).

Tabela 80. Regresja liniowa między względną długością telomerów a badanymi parametrami ciężkości przebiegu.

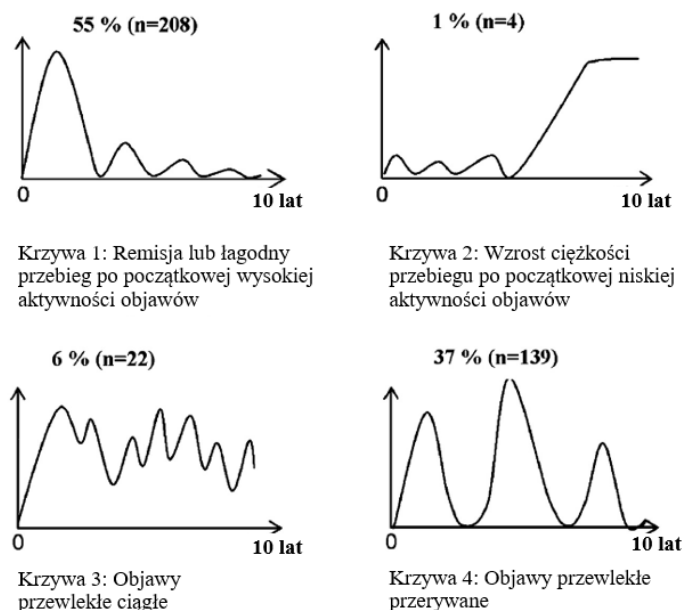
Parametr	n	Mediana [1-3 kwartył]	R ²	F	Wartość p
Zaostrzenia od urodzenia	32	1 [1-1]	0.238	2.921	0.051
Hospitalizacje jednodniowe	33	5 [4-7]	0.238	3.019	0.046
Hospitalizacje wielodniowe	32	4 [2-8]	0.162	1.800	0.170
Dni hospitalizacji	33	28 [15-55]	0.225	2.805	0.057

5. DYSKUSJA

Podłoże NZJ jest wieloczynnikowe, a ich etiologia nie została jeszcze dokładnie poznana. Dotychczas zidentyfikowano 240 loci genów ryzyka choroby (84). Mimo dotychczasowych badań przebieg choroby jest również trudny do przewidzenia. Do tej pory zidentyfikowano kilka wariantów genetycznych, które były związane z przebiegiem choroby i koniecznością wczesnej interwencji (92,95,249). W przypadku mukowiscydozy, przyczyna choroby jest znana i są nią mutacje w genie *CFTR*. Dotychczas opisano 2073 mutacje (250) powodujące dużą zmienność objawów obserwowanych u pacjentów z CF (251,252). Wychodząc naprzeciw tym problemom, w pracy podjęto próbę zweryfikowania hipotezy o istnieniu związku polimorfizmów *DMBT1*, *SFTPD* i *APOE* z przebiegiem nieswoistych zapaleń jelit oraz zweryfikowanie hipotezy, że zmienna długość telomerów leukocytów u dzieci z mukowiscydozą odzwierciedla nasilenie choroby i może być związana z fenotypem w CF. Zarówno NZJ, jaki i CF są chorobami o charakterze przewlekłym, ogólnoustrojowym, z licznymi objawami ze strony układu pokarmowego. W przypadku obu tych jednostek chorobowych konieczne jest długotrwałe i niejednokrotnie intensywne leczenie szpitalne. W przebiegu obu schorzeń występuje ryzyko zaburzeń rozwoju fizycznego dzieci związane z niedożywieniem, odwodnieniem oraz niedoborami witamin i mikroelementów. Mimo kilku podobieństw, CF charakteryzuje się większym wpływem na funkcjonowanie pacjentów. CF zazwyczaj manifestuje się już od urodzenia, podczas gdy szczyt zachorowań na NZJ przypada pomiędzy 20-40 rokiem życia. W przebiegu CF występują też liczne objawy ze strony układu oddechowego oraz większe ryzyko występowania poważnych chorób współwystępujących takich jak marskość wątroby i cukrzyca. Ponadto, w CF choroba ma charakter postępujący, natomiast w NZJ mogą występować długie okresy nawet bezobjawowej remisji. Ze względu na poważny obraz kliniczny obu chorób wydaje się zasadnym próba korelacji objawów z wybranymi czynnikami molekularnymi mogącymi stanowić potencjalną pomoc w wyjaśnieniu fenotypu oraz określeniu i prognozowaniu ciężkości przebiegu.

Zdefiniowanie ogólnej ciężkości NZJ wciąż pozostaje trudne. W norweskim badaniu kohortowym IBSEN poproszono 423 pacjentów z WZJG o kategoryzację ich przebiegu klinicznego w ciągu ostatnich 10 lat przy użyciu jednej z czterech predefiniowanych krzywych (253)(Ryc. 19.) Wyniki badania pokazują, że większość

pacjentów doświadcza wysokiej aktywności objawów na początku choroby i łagodnego przebiegu lub remisji w kolejnych latach.



Ryc. 19. Wyniki badania kohortowego IBSEN (Thomas Ochsenkühn, Geert D'Haens. Gut. 2011;60:1294-1299).

Do tej pory nie poznano markerów, które mogłyby z dużą czułością i swoistością przewidzieć przebieg choroby i wskazać pacjentów wymagających intensywnego leczenia na początku choroby (254). Obecne badania asocjacyjne całego genomu (SNP-GWAS) pokazują, że nawet przy analizach 15000 przypadków i 15000 kontroli, można wyjaśnić tylko 13,6% wariacji choroby, co wskazuje na fakt, że istnieją inne warianty ryzyka genetycznego, które nie są sprawdzane przez obecne metody SNP-GWAS (212). Nowe metody molekularne pozwalają zidentyfikować grupy pacjentów odpowiadających na określone leczenie, np. ostatnie badanie wykazało, że u nosicieli HLA-DQA1*05 po roku terapii infliksimabem ryzyko wystąpienia przeciwciał przeciwleukowych wynosi 92% (255). Badania te wymagają rzetelnej charakterystyki klinicznej pacjentów. W niniejszym badaniu wykorzystaliśmy spersonalizowany kwestionariusz, obejmujący najbardziej znaczące obszary w celu określenia nasilenia choroby. Kwestionariusz kliniczny zawiera pytania dotyczące liczby zaostrzeń, hospitalizacji, stosowanej terapii i konieczności interwencji chirurgicznej. W badaniu własnym zastosowano także ocenę psychologiczną, rzadko uwzględnianą w badaniach genetycznych nad NZJ. Wyniki analizy odpowiedzi pacjentów w kwestionariuszu doznań psychofizycznych wskazują na związek alleli *APOE*

z bólem w momencie rozpoznania i ograniczeniem uczestnictwa w zajęciach szkolnych w najcięższym rzucie u pacjentów z WZJG. Allele polimorfizmu *DMBT1* rs2981804 były związane z subiektywnym odczuciem lęku przy rozpoznaniu i rekrutacji, natomiast allel T+ polimorfizmu *SFTPD* z mniejszym bólem w momencie rekrutacji u pacjentów z WZJG.

Jednym z najczęściej badanych genów u człowieka jest gen kodujący apolipoproteinę E *APOE* (18034 rekordów w bazie MEDLINE (256)). Wśród dziesiątek jego polimorfizmów największą uwagę poświęca się tym, które prowadzą do powstania 3 izoform białkowych – *APOE2*, *APOE3* i *APOE4*. Wśród nich *APOE4* jest często wiązana ze zwiększonym ryzykiem różnych chorób np. około 50% w przypadku chorób sercowo-naczyniowych (257). Początkowo zwiększone ryzyko wiązano z wysokimi stężeniami cholesterolu i trójglicerydów we krwi. Jednak ten efekt okazał się niewystarczający, aby wytłumaczyć zarówno różnice w fenotypie chorób sercowo-naczyniowych, jak i związek z chorobą Alzheimera i innymi jednostkami chorobowymi. Zwrócono wobec tego uwagę na dwie inne, kluczowe właściwości *APOE* jakimi są potencjał anty-oksydacyjny i modulujący stan zapalny, zmieniające się w zależności od genotypu.

W niniejszym badaniu podjęto próbę znalezienia związku między genotypem *APOE* a ciężkością choroby w NZJ. Główne wyniki badania sugerują, że allel *APOE2* może być istotnie związany z łagodniejszą aktywnością ChLC wyrażoną skalą PCDAI. Badanie jest jak dotąd największym oceniającym polimorfizm *APOE* w NZJ w populacji europejskiej.

Poprzednie i dotychczas jedyne badanie *APOE* u pacjentów z NZJ pochodzi z Arabii Saudyjskiej (258). Wielkość badanej próby wynosiła 178 dorosłych pacjentów. Autorzy sugerują, że polimorfizmy *APOE* są związane z ryzykiem i wczesnym początkiem NZJ.

Wyniki badań pokazują, że poziomy CRP różni się między poszczególnymi genotypami *APOE* u osób zdrowych (259). Uczestnicy badania z genotypem *APOEε3ε3* wykazywali najwyższe poziomy CRP w osoczu, podczas gdy uczestnicy z *APOEε4ε4* i *APOEε2ε4* wykazywali najniższe poziomy (259). Podobny związek zaobserwowano w innych jednostkach chorobowych, na przykład w chorobie wieńcowej (260–262). März i wsp. udowodnili, że w chorobie wieńcowej zarówno liczba białych krwinek, jak i fibrynogen, nie były związane z genotypem *APOE*. Z tego względu zasugerowano, że efekt ten nie jest związany z zapaleniem, ale raczej ze szlakiem syntezy

mewalonianu/cholesterolu, która może być obniżona u nosicieli *APOE4* w odpowiedzi na zmieniony metabolizm lipoprotein i wychwyty w wątrobie (263). Podobnie w badaniu Yun i wsp. allel *APOE4* był związany z mniejszym stężeniem CRP, ale nie z liczbą białych krwinek (264). Dokładny mechanizm powyższego zjawiska nie został wyjaśniony. W badaniach własnych zaobserwowano różnicę w stężeniach CRP w momencie najcięższego rzutu NZJ. Rola *APOE* w NZJ jest w dużej mierze nieznana. Badania z wykorzystaniem mysich komórek nabłonka okrężnicy wykazały, że peptyd naśladujący *APOE* (COG112) hamuje odpowiedź zapalną na *Citrobacter rodentium* (265), bakterię, o której wiadomo, że powoduje zapalenie jelita grubego u myszy (266). Autorzy zasugerowali, że peptyd może działać poprzez hamowanie odpowiedzi prozapalnych związanych z NF- κ B w nabłonku (265).

Badanie własne nie obejmowało grupy kontrolnej zdrowych ochotników, niemniej jednak polimorfizmy *APOE* u zdrowych osób były badane w populacji polskiej kilkakrotnie (244,245,246,247), co pozwoliło oszacować, czy istnieje różnica w rozkładzie genotypów. Częstość występowania genotypu $\epsilon 3/\epsilon 3$ była mniejsza u pacjentów z NZJ w porównaniu z kontrolą, co jest zgodne z poprzednim badaniem z Arabii Saudyjskiej (258). Jednocześnie występowała większa częstość genotypu $\epsilon 3/\epsilon 4$ w grupie NZJ w porównaniu z grupą kontrolną a efekt utrzymywał się po zwiększeniu grupy kontrolnej do 425 osób. Niestety z uwagi na niepełne dane z pozostałych źródeł piśmienniczych dalsze zwiększenie liczby osób w grupie kontrolnej w celu weryfikacji tej różnicy jest niemożliwe.

Białko SALSA, wcześniej nazywane DMBT1 wchodzi w interakcję z powierzchnią komórek nabłonkowych oraz patogenami, komórkami śródbłonka, białkami dopełniacza i innymi elementami odpowiedzi immunologicznej. Występowanie SALSA w różnych izoformach może skutkować większym powinowactwem do niektórych cząsteczek, a interakcje te mają istotne znaczenie biologiczne, coraz częściej opisywane w literaturze. Ogólna funkcja SALSA na powierzchniach błony śluzowej wydaje się jasna. Cząsteczka aglutynuje i usuwa mikroorganizmy, tłumiąc ogólną reakcję zapalną. Jednocześnie utrzymuje integralność bariery powierzchni śluzówki, wspierając homeostazę warstwy nabłonkowej (174,267). Jest to szczególnie widoczne w przypadku niektórych izoform, które są związane z zaostroszą odpowiedzią immunologiczną, taką jak w ChLC. Autorzy poprzednich badań sugerowali, że białko SALSA może być stosowane jako kliniczny marker choroby (211,212), a polimorfizm rs2981804 koreluje z ChLC (184). Zmiana ta występuje w niekodującej części genu *DMBT1*, ale wpływa na wiązanie czynników

transkrypcyjnych CREB1 i ATF-2, prowadząc w ten sposób do zmniejszenia ekspresji SALSA. W badaniu własnym wykazano kilka istotnych zależności, z których największe znaczenie wydaje się mieć związek polimorfizmu rs2981804 ze stanem odżywienia w NZJ i objawami skórnymi w przebiegu ChLC. W badaniu Diegelmann i wsp. zbadano czy istnieje związek między polimorfizmem rs2981804 a wiekiem diagnozy, lokalizacją i charakterem choroby (Klasyfikacja Montrealska), częstością stosowania immunosupresji, chirurgią i przetoką u dorosłych z ChLC. Nie wykazano związku rs2981804 z wyżej wymienionymi cechami fenotypowymi (184). Dalsze badania nad potwierdzeniem wyników własnych w większej grupie badanych jest kolejnym etapem pracy.

W badaniu Diegelmann i wsp. polimorfizmem najsilniej związanym z ChLC był rs2981804 ($p = 3,0 \times 10^{-7}$, OR 1,42, 95% CI 1,24–1,63). Drugim polimorfizmem silnie związanym z ChLC był rs2981745 ($p = 7,7 \times 10^{-3}$, OR 1,21, 95% CI 1,05–1,39) (184). Oba te warianty były również związane z WZJG, chociaż rs2981745 wykazywał silniejszy związek (rs2981745: $p = 2,5 \times 10^{-4}$, OR 1,50, 95% CI 1,24–1,82; rs2981804: $p = 2,5 \times 10^{-3}$, OR 1,31 95% CI 1,08–1,58 (184). W badaniu własnym wykazano, że wśród chorych z WZJG pacjenci z wariantem TT polimorfizmu rs2981745 mają większe stężenia CRP przy rozpoznaniu i w momencie najcięższego rzutu niż pacjenci z pozostałymi wariantami. W badaniu Diegelmann i wsp. allel T+ polimorfizmu rs2981745 był związany z wiekiem diagnozy (≤ 16 lat), lokalizacją w jelicie krętym i grubym (L3) i charakterem bez zwężeń i przetok (B1).

Badania funkcji *SFTPD* w przewodzie pokarmowym wykazały, że *SFTPD* ulega ekspresji w nabłonku jelitowym i pełni kluczową rolę we wrodzonej obronie gospodarza i regulacji odpowiedzi zapalnej (213,214). Dane literaturowe wskazują na związek polimorfizmów *SFTPD* z przebiegiem choroby i zwiększonym ryzykiem zachorowania na NZJ, co udokumentowano u pacjentów z Japonii i Pensylwanii (233,234). Zasugerowano, że *SFTPD* może być genem podatności na chorobę, jak również modyfikującym chorobę. Ekspresja białka *SFTPD* w nabłonku okrężnicy pacjentów z NZJ silnie koreluje z aktywnością zapalną ($R^2=0,78$, $p < 0,0001$; ChLC ($R^2 = 0,92$) WZJG ($R^2=0,78$), choć nie obserwowano tak silnego związku w modelu mysim (235). Wiele badań podstawowych wskazywało na znaczenie białka *SFTPD* w alergii (268,269). Obecnie brak jest danych na temat związku *SFTPD* rs2243639 z ciężkością choroby w NZJ. Badania własne sugerują, że największe znaczenie wydaje się mieć związek allelu T z leczeniem glikokortykosteroidoterapią systemową u pacjentów z UC.

Badania nad długością telomerów cieszą się dużym zainteresowaniem. Wpisanie hasła „telomeres” w bazie danych Medline pozwala na identyfikację 24 872 rekordów (256). Dotychczas poznano kilka metod oceny długości telomerów, a każda z nich ma swoje wady i zalety. Pierwszą metodą pomiaru długości telomerów była metoda końcowych fragmentów restrykcyjnych (ang. terminal restriction fragment, TRF), która polega na trawieniu genomowego DNA przy pomocy enzymów restrykcyjnych tnących sekwencje nietelomerowe, a następnie wizualizacji wyniku na żelu agarozowym z użyciem sond nakierowanych na sekwencje TTAGGG (270). W kolejnym etapie intensywność prążka jest porównywana z markerem o znanych długościach DNA. Metoda ta jest uznawana za złoty standard pomiaru długości telomerów, natomiast nie jest pozbawiona wad. Kluczowym aspektem tej metody jest integralność i jakość użytego materiału genetycznego, których cechy mogą spowodować przeszacowanie prawdziwej długości telomerów. Metodologia ta jest również pracochłonna i nie jest w stanie wykryć krótkich telomerów, ponieważ bardzo krótkie telomery mogą nie wiązać skutecznie sondy (270). Aby uniknąć konieczności użycia dużych ilości DNA, opracowano metodę analizy długości telomerów opartą na reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) (270,271). Długość telomerów w tej metodzie określa się ilościowo przez porównanie ilości produktu amplifikacji telomeru (T) z ilością produktu genu o pojedynczej kopii (S). Obliczony stosunek T/S, jest wartością względną, która koreluje ze średnią długością telomeru (ale nie jest dokładnym oszacowaniem liczby par zasad). W badaniach Terry i wsp. podjęto próbę określenia ilości par zasad ze stosunku T/S ($T/S=1=4270$ par zasad) (272). Nie istnieją jednak żadne ogólnie przyjęte wartości referencyjne. Techniki oparte na PCR mają wysoką przepustowość umożliwiającą prowadzenie dużych badań epidemiologicznych, jednakże wygenerowane wyniki nie mogą być porównywane między laboratoriami. Ograniczenie to wynika z różnic w jakości i metodyce ekstrakcji genomowego DNA oraz wysokiego poziomu zmienności między pomiarami.

Długość telomerów modulowana przez różne czynniki wewnętrzne i środowiskowe. Jednocześnie, wykazuje obiecujący potencjał dla medycyny translacyjnej (273,274). Dostępne dane literaturowe wskazują, że długość telomerów poniżej ≤ 5000 pz jest związana z gorszym przeżyciem w przewlekłej białaczce limfocytowej (143). W badaniu własnym zrekrutowano dzieci w wieku 5-10 lat co stanowi wąski przedział wiekowy. Dzięki temu znacząco ograniczony został wpływ czynników zakłócających, takich jak różnice w stylu życia (24). Pozwala to skupić się szczególnie na czynnikach

związanych z mukowiscydozą, takich jak leczenie, genotyp *CFTR* i fenotyp choroby. Wyniki nie wykazały znaczącej różnicy we względnej długości telomerów leukocytów izolowanych z suchych plam krwi włośniczkowej między pacjentami z mukowiscydozą i zdrowymi dziećmi.

Doniesienia bezpośrednio porównujące długość telomerów leukocytów u osób z mukowiscydozą i zdrowych są nieliczne. Poprzednie badania dotyczące innych tkanek nie wykazały różnic. W badaniu Fischer i wsp. nie zaobserwowano znaczącej różnicy w długości telomerów komórek nabłonkowych dróg oddechowych pomiędzy 18 pacjentami z CF i tak samo liczną grupą kontrolą. (275). Ponadto, autorzy nie znaleźli żadnej korelacji między długością telomerów a danymi klinicznymi lub ciężkością choroby, w odróżnieniu do badania własnego. W innym badaniu, Everaerts i wsp. również nie wykazali istotnej różnicy długości telomerów tkanki płucnej między pacjentami z CF ($n = 12$) i grupą kontrolną ($n = 13$) (35). Ponadto nie odnotowano żadnej różnicy w długości telomerów między obszarami z nieprawidłowościami strukturalnymi a normalnie wyglądającą tkanką (276). Wadą tych badań jest zróżnicowanie wieku i płci badanych osób, co, jak wykazano, odgrywa kluczową rolę w dynamice długości telomerów (277). Aby uniknąć podobnych efektów zakłócających, badania przekrojowe powinny koncentrować się na rygorystycznej definicji próbek i ujednoczyć wiek oraz płeć w każdej grupie. W badaniach własnych, mimo że badana próba przekroczyła wielkość z poprzednich badań dwa razy (34, 35), nie wykryto istotnych różnic między CF a kontrolą. Jednakże, nie można wykluczyć efektu stochastycznego i pojawienia się różnic przy badaniu większej próby.

Najczęstszymi typami komórek wykorzystywanymi w badaniach długości telomerów są krew pełna i komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC). Badanie oceniające długość telomerów w leukocytach, mięśniach szkieletowych, skórze i tłuszczu podskórnym u 87 osób dorosłych (w wieku 19-77 lat) wykazało, że tempo skracania telomerów jest podobne we wszystkich badanych tkankach (278). Najdłuższe telomery zaobserwowano w mięśniach, a najkrótsze w leukocytach, a uzyskane wyniki korelowały między tkankami (278). W najnowszym badaniu przeanalizowano 6 391 próbek tkanek reprezentujących ponad 20 rodzajów tkanek oraz zaobserwowano różnice między tkankami, pozytywną korelację między typami tkanek oraz związek z wiekiem (279). Uznaje się, że użycie krwi jako reprezentacji dynamiki zmian długości telomerów u człowieka jest uzasadnione.

W badaniu własnym wykorzystano suche plamy krwi włóścikowej pobranej z palca. Ten mało inwazyjny sposób pobrania niesie ze sobą duży potencjał szybkiej oceny względnej długości telomerów u pacjenta (280). Dotychczas niewiele badań wykorzystywało ten rodzaj materiału do pomiaru długości telomerów (281). W badaniach Stout et al. wykazano, że wyniki względnej długości telomerów z krwi żyłnej korelują z wynikami z suchej kropli krwi (280). Stwierdzono, że krew włóścikowa charakteryzuje się mniejszą liczbą granulocytów ($p < 0,05$) i płytek krwi ($p < 0,01$) (282). Badania wykorzystujące krew pełną oceniają długość telomerów leukocytów składających się z populacji limfocytów, monocytów i granulocytów. Częstym materiałem w badaniach są też PBMC składające się z populacji limfocytów i monocytów. Wykazano, że u dorosłych limfocyty mają krótsze telomery niż granulocyty (283), dlatego ogólna długość telomerów zależy od typu badanych komórek. Statystyczna korekta składu komórek jest w tym przypadku alternatywą, ale w większości przypadków nie zmienia znacząco wniosków (243).

Tempo skracania telomerów leukocytarnych we wczesnym dzieciństwie określa się jako szybkie ($> 0,2$ kb/rok) (9, 10, 18), podczas gdy w wieku dorosłym wynosi około 0,03 kb/rok (13–17) (284). Szybsze tempo skracania może być spowodowane zwiększoną szybkością replikacji komórek u dzieci (285). Po około 3 roku życia szybkość zmiany długości telomerów wydaje się być względnie stała i podobna do tej u dorosłych (285). Niemniej jednak długość telomerów u dwóch osób w tym samym wieku może być bardzo różna i prawdopodobnie wynika to z faktu, że proporcje limfocytów, monocytów, bazofili i granulocytów mogą się znacznie różnić u poszczególnych osób w zależności od ich wieku i stanu zdrowia (286).

W kilku badaniach porównujących długość telomerów między typami leukocytów stwierdzono istotne różnice. Rufer i wsp. wykazali, że limfocyty i granulocyty mają podobną długość telomerów u młodych osób, przy czym limfocyty wykazują 1,5-krotnie szybsze skracanie niż granulocyty podczas starzenia (287). Komórki T pamięci (CD4 i CD8) mają znacznie krótsze telomery niż naiwne limfocyty (287). Podczas odpowiedzi immunologicznej aktywność telomerazy jest zwiększona, co może służyć jako odpowiedź adaptacyjna w celu ochrony limfocytów przed skróceniem telomerów. Telomery są również wydłużane podczas dojrzewania naiwnych komórek B (288). Mimo tych różnic między subpopulacjami leukocytów nie neguje się ogólnego skracania długości telomerów, które występuje podczas starzenia. Oprócz związanego z wiekiem wzrostu odsetka

leukocytów z krótkimi telomerami, następuje również ogólne przesunięcie populacji komórek krwi w kierunku komórek ze stosunkowo krótkimi telomerami, w tym komórek NK, T regulatorowych i limfocytów pamięci (289). Niewykluczone zatem, że skrócenie telomerów może nie odzwierciedlać stresu, ale raczej przesunięcie populacji komórek. Badanie Church i wsp. wykazało, że skład limfocytów u pacjentów z CF nie różni się znacząco od osób zdrowych oraz że również u niedożywionych pacjentów z CF nie występują niedobory podtypów limfocytów (290).

W badaniu własnym nie wykazano różnic w długości telomerów między dziewczynkami i chłopcami. Powszechnie uważa się, że kobiety mają dłuższe telomery niż mężczyźni (291). Sugeruje się, że jest to związane z estrogenami (292), które oddziałują na rejon wrażliwy na ich działanie (ang. estrogen response element, ERE), znajdujący się w odwrotnej transkryptazie telomerazy, stymulując telomerazę do wydłużania telomerów (291). Aktywność telomerazy maleje z wiekiem, a u osób po 40 roku życia jest bardzo mała lub niewykrywalna (277). Ponadto, telomery są szczególnie wrażliwe na stres oksydacyjny (293), a kobiety wytwarzają mniej reaktywnych form tlenu niż mężczyźni (291). Sugerowano, że kobiety mogą również lepiej metabolizować reaktywne formy tlenu (291), ze względu na właściwości przeciwutleniające estrogenów (294). Wyniki badań różnic między płciami są jednak sprzeczne. Badanie Shiels i wsp. nie wykazało różnic we względnej długości telomerów między leukocytami kobiet i mężczyzn w wieku 35-64 (n=382) (295), natomiast w badaniu 4 000 dzieci w wieku 4 lat zaobserwowano różnicę między płciami (296), co sugeruje, że różnice w długości telomerów między płciami mogą pojawić się już we wczesnym wieku. Autorzy podkreślają, że różnice te były istotne statystycznie, ale wielkość efektu była stosunkowo niewielka w porównaniu do różnic zgłaszanych u osób dorosłych (296). Wielkość próby i technika pomiaru to kluczowe różnice w badaniach wykazujących niespójne wyniki w odniesieniu do płci. W metaanalizie 36 kohort (razem 36 230 uczestników) wykazano, że kobiety miały średnio dłuższe telomery niż mężczyźni (znormalizowana różnica długości telomerów między kobietami i mężczyznami: 0,090; 95% CI 0,015-0,166; z uwzględnieniem wieku) (297). Wykazano, że efekt ten nie zależał od wieku ani typu komórek badanych, ale od metody pomiaru (297). Obecnie trwają dyskusje na temat porównywalności i odtwarzalności metod służących do oznaczania długości telomerów (298–301).

W badaniach własnych zaobserwowano, że względna długość telomerów koreluje z istotnymi, z punktu widzenia pacjenta, wykładnikami ciężkości choroby, takimi jak liczba

dni hospitalizacji i przyjmowanie glikokortykosteroidów wziewnych. Związek długości telomerów z liczbą dni spędzonych w szpitalu wydaje się być ważny, mimo małej próby. Jednak potwierdzenie tej relacji wymaga dalszych badań. Związek długości telomerów ze stosowaniem glikokortykosteroidoterapii wziewnej jest zgodny z doniesieniem konferencyjnym Lammertyna i in. (302). Badanie wśród pacjentów z nieczynnymi gruczołakami przysadki pokazuje, że pacjenci z większą dzienną dawką hydrokortyzonu charakteryzowali się krótszymi telomerami (303). Badania *in vitro* wykazują znaczne zmniejszenie (50%) aktywności telomerazy w limfocytach T po ekspozycji na wysokie poziomy kortyzolu (304). Dokładny mechanizm powyższego zjawiska nie został wyjaśniony.

Zmianę długości telomerów często wiąże się z patologiami płuc, takimi jak przewlekła obturacyjna choroba płuc lub idiopatyczne zwłóknienie płuc (305–307). Choć są to różne jednostki chorobowe, wzorce przewlekłego stanu zapalnego są podobne do mukowiscydozy, w związku z czym przyspieszenie skracania telomerów wydaje się rozsądnym założeniem. Wyniki dotychczasowych badań nad związkiem FEV1% z długością telomerów są sprzeczne. Podczas gdy niektóre badania nie wykazały takiego związku (305,308), inne wykazały pozytywną korelację dodatnią między długością telomerów leukocytów a FEV1% (25,32). Wyniki badań własnych sugerują istotny związek między względną długością telomerów i FEV1%, jednak analiza kowariancji z uwzględnieniem stosowania glikokortykosteroidów wziewnych nie potwierdza związku. Badania czynnościowe takie jak spirometria mogą stanowić wyzwanie w przypadku dzieci. Według badań Gaffina i wsp. prawie połowa pacjentów w wieku 4-5 lat nie jest w stanie wykonać powtarzalnej i akceptowalnej spirometrii (zgodnie z wytycznymi American Thoracic Society) (309). Weryfikacja uzyskanych wyników na większej grupie dzieci, poszerzenie badania o pacjentów dorosłych, a także badanie długofalowe mające na celu ocenę tempa zmiany długości telomerów w czasie mogą przyczynić się do poszerzenia wiedzy na temat biologii telomerów w przyszłości.

Choć podłoże genetyczne NZJ i CF jest odmienne, obie te choroby charakteryzują się przewlekłym, ogólnoustrojowym przebiegiem wymagającym długotrwałego leczenia szpitalnego. Rozwój technik biologii molekularnej umożliwia przybliżanie i dokładniejsze scharakteryzowanie ich ekspresji i ciężkości. Przyszłe badania nad mechanizmami działania białek SALSA, SFTPD i APOE mogą okazać się pomocne w zrozumieniu etiologii NZJ, a określenie wariantów genetycznych ich genów mogą być do pewnego

stopnia przydatne w aspekcie klinicznym. Dostępne dane literaturowe wskazują, że długość telomerów może mieć potencjał prognostyczny. Dokładniejsze poznanie biologii telomerów w kontekście innych chorób może okazać się pomocne z klinicznego punktu widzenia.

6. WNIOSKI

1. U pacjentów z NZJ polimorfizmy *DMBT1* pozostają w związku ze stanem odżywienia, ogólnoustrojowym stanem zapalnym oraz objawami skórными. U chorych z allelem G+ polimorfizmu *DMBT1* rs2981804 stwierdzono mniejsze wartości standaryzowanej masy ciała oraz większe stężenia albumin, a u pacjentów z allelem C+ polimorfizmu *DMBT1* rs2981745 mniejsze stężenie CRP w surowicy krwi w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu WZJG. Pacjenci z ChLC z allelem G+ polimorfizmu *DMBT1* rs2981804 rzadziej natomiast prezentują objawy skórne.
2. Polimorfizm *APOE* pozostaje w związku ze stanem zapalnym i aktywnością choroby. U pacjentów z allelem *APOE4* stężenia CRP w momencie najcięższego rzutu były mniejsze, zarówno w całej grupie NZJ, jak i w podgrupie chorych na WZJG, natomiast u chorych z ChLC genotyp *APOE2* związany był z mniejszą aktywnością choroby mierzoną skalą PCDAI.
3. U pacjentów z WZJG wykazano związek stosowanego leczenia z polimorfizmem *SFTPD*. U pacjentów z allelem T+ częściej stosowano glikokortykosteroidoterapię systemową.
4. Częstość występowania poszczególnych genotypów *APOE* u chorych z NZJ jest odmienna niż w populacji ogólnej.
5. U chorych na mukowiscydozę i zdrowych dzieci w wieku 5-10 lat względna długość telomerów w leukocytach krwi włosiczkowej nie różni się istotnie. Podobnie, dla powyższego parametru nie wykazano występowania dymorfizmu płciowego, zarówno dla wszystkich uczestników badania, jak i w grupie pacjentów oraz w grupie kontrolnej.
6. U pacjentów z mukowiscydozą względna długość telomerów pozostaje w związku z charakterystyką kliniczną. Krótsze telomery występowały u chorych otrzymujących glikokortykosteroidy wziewne, a także w przypadku występowania chorób współistniejących oraz większej liczby hospitalizacji.

7. STRESZCZENIE

Podłoże nieswoistych zapaleń jelit (NZJ) i mukowiscydozy (CF) jest odmienne, niemniej jednak obie te choroby charakteryzują się przewlekłym, ogólnoustrojowym przebiegiem wymagającym długotrwałego i niejednokrotnie intensywnego leczenia szpitalnego. Rozwój technik biologii molekularnej umożliwia przybliżenie i dokładniejsze opisanie ciężkości przebiegu, z potencjalnym zastosowaniem klinicznym.

Celem pracy była ocena związku wybranych markerów molekularnych z ekspresją i ciężkością przebiegu NZJ i CF. Cel ten realizowany był poprzez analizę wybranych polimorfizmów o potencjalnym wpływie na ciężkość choroby u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG) i chorobą Leśniowskiego-Crohna (ChLC) oraz pomiary względnej długości telomerów u pacjentów z CF.

W ramach prowadzonych badań (2015-2019) zrekrutowano 311 pacjentów chorych na NZJ (ChLC n=174; WZJG n=137) oraz 34 dzieci chorych na CF i 36 zdrowych ochotników. Kryteria włączenia dla pacjentów z NZJ obejmowały: rozpoznanie ChLC lub WZJG oraz wiek ≥ 3 . Pacjenci w stanie zagrożenia życia oraz ciężkim stanie ogólnym zostali wyłączeni z badania. W badaniu względnej długości telomerów zostały przyjęte następujące kryteria włączenia dla pacjentów i kontroli: wiek ≥ 5 i ≤ 10 lat, centylowe wartości wzrostu i wagi w zakresie referencyjnym, wiek ciążowy ≥ 36 tygodni, masa urodzeniowa > 2500 g, aktualna historia choroby bez istotnych problemów zdrowotnych. Kryteria wyłączenia dla zdrowych ochotników badania obejmowały: wady wrodzone, wrodzone zaburzenia metaboliczne, istotne komplikacje okołoporodowe, przewlekła choroba układowa (cukrzyca, choroba nerek, nadciśnienie, nieswoiste zapalenie jelit), ostre infekcje w miesiącu poprzedzającym badanie (biegunka, infekcja dróg oddechowych). Kryterium wyłączenia dla pacjentów z mukowiscydozą stanowiło zaostrzenie oskrzelowo-płucne. U wszystkich pacjentów dokonano oceny stanu odżywienia. Na podstawie kwestionariusza oceniono ekspresję NZJ: stężenie CRP w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu, skale aktywności choroby PCDAI i PUCAI w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu, współwystępowanie innych chorób i objawów pozajelitowych. Lokalizacja i charakter choroby został określony na podstawie Klasyfikacji Paryskiej w momencie rozpoznania i najcięższego rzutu. Zebrano dane dotyczące stosowanej terapii (liczba kursów glikokortykosteroidoterapii systemowej, pierwsze leczenie

immunosupresyjne, leczenie biologiczne oraz leczenie chirurgiczne), a także liczby hospitalizacji, liczby dni hospitalizacji, liczby zaostrzeń oraz liczby ciężkich rzutów od czasu diagnozy do momentu zebrania danych. Ocena subiektywnych doznań psychofizycznych u pacjentów z NZJ dotyczyła: subiektywnego odczucia bólu, niepokoju i ograniczenia aktywności społecznej zmierzonych w odniesieniu do trzech punktów czasowych: w momencie rozpoznania choroby, w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości i aktualnie.

U wszystkich pacjentów z CF ceniono ekspresję kliniczną choroby na podstawie: funkcji płuc (FEV1%), funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki (stężenie elastazy-1 w stolcu), kolonizacji *Pseudomonas aeruginosa*, stężenia chlorków w pocie w momencie badania przesiewowego, współwystępowania choroby wątroby związanej z mukowiscydozą lub marskości wątroby, cukrzycy, polipów nosowych, przewlekłego zapalenia zatok, choroby refluksowej przełyku, niedrożności smółkowej, współwystępowania innych chorób i genotypu. W celu oceny ciężkości przebiegu choroby zebrano informacje dotyczące częstości zaostrzeń choroby oskrzelowo-płucnej, liczby hospitalizacji jednodniowych od urodzenia do chwili włączenia do badania, liczby hospitalizacji wielodniowych od urodzenia do pobrania krwi oraz liczby dni hospitalizacji wielodniowych od urodzenia do pobrania krwi.

U pacjentów z NZJ oznaczono polimorfizmy genów kodujących apolipoproteinę E (*APOE*; rs7412, rs429358), białko *DMBT1* (rs2981745, rs2981804) oraz *SFTPD* (rs2243639). Wybrane polimorfizmy oznaczono przy użyciu zestawu sond hybrydacyjnych i starterów TaqMan SNP Genotyping Assay. W badaniu oceniającym względną długość telomerów w CF wykorzystano metodę ilościowej łańcuchowej reakcji polimeryzacji ustalonej przez Cawthona i wsp.

Częstości genotypu *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 3$ były mniejsze u pacjentów z NZJ w porównaniu do grupy kontrolnej. Jednocześnie zaobserwowano większą częstość genotypu $\epsilon 3/\epsilon 4$ w grupie NZJ w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Ponadto, allel *APOE* $\epsilon 2$ może być istotnie związany z łagodniejszą aktywnością ChLC wyrażoną skalą PCDAI. Pacjenci z NZJ i allelem *APOE* $\epsilon 4$ wykazywali mniejsze stężenia CRP w momencie najcięższego rzutu, a efekt utrzymywał się tylko dla pacjentów z WZJG.

Pacjenci z NZJ i genotypem AA polimorfizmu rs2981804 (*DMBT1*) mieli niższe poziomy albumin przy rozpoznaniu, a efekt ten utrzymywał się tylko dla pacjentów

z WZJG. U chorych z allelem G+ polimorfizmu *DMBT1* rs2981804 stwierdzono mniejsze wartości standaryzowanej masy ciała oraz większe stężenia albumin. U pacjentów z allelem G+ rzadziej obserwowano skórne objawy współwystępujące.

Wśród pacjentów z WZJG nosiciele wariantu TT polimorfizmu rs2981745 (*DMBT1*) mieli większe stężenia CRP przy rozpoznaniu i w momencie najcięższego rzutu niż nosiciele pozostałych wariantów.

U pacjentów z WZJG i genotypem T+ polimorfizmu rs2243639 (*SFTPD*) częściej stosowano glikokortykosteroidoterapię systemową.

Względna długość telomerów nie różniła się między pacjentami z CF a zdrowymi ochotnikami. Nie zaobserwowano różnicy we względnej długości telomerów między dziewczynkami a chłopcami zarówno dla wszystkich uczestników badania jak i w grupie pacjentów z CF oraz w grupie kontrolnej. Krótsze telomery występowały u chorych otrzymujących glikokortykosteroidy wziewne, a także w przypadku występowania chorób współistniejących oraz większej liczby hospitalizacji.

Przyszłe badania nad mechanizmami działania białek SALSA, SFTPD i APOE mogą okazać się pomocne w zrozumieniu biologii NZJ. Dokładniejsze poznanie biologii telomerów w kontekście CF może okazać się pomocne z klinicznego punktu widzenia.

8. SUMMARY

SELECTED MOLECULAR DETERMINANTS AND CORRELATES OF DISEASE SEVERITY IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASES AND CYSTIC FIBROSIS

The genetic background of inflammatory bowel disease (IBD) and cystic fibrosis (CF) is miscellaneous, but both diseases are chronic and systemic in their nature and both frequently require intensive hospital treatment. Various molecular techniques facilitate more accurate description of the disease severity, with a potential bench-to-bedside application.

The aim of the study was to assess selected molecular markers in the context of expression and severity of IBD and CF. This aim was accomplished using association analysis of selected polymorphisms with clinical picture of ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) as well as relative telomere length assessment in CF patients.

The study was performed in 2015-2019 and included 311 patients with IBD (CD n = 174; UC n = 137), 35 children with CF and 36 healthy volunteers. Inclusion criteria for patients with IBD comprised: diagnosis of CD or UC, and age ≥ 3 and ≤ 18 years. Patients in a life-threatening condition and a severe general condition were excluded from the study. The following inclusion criteria for patients and controls were adopted in the relative telomere length study: age ≥ 5 and ≤ 10 years, percentile height and weight values in the reference range, gestational age ≥ 36 weeks, birth weight > 2500 g, current medical history without significant health problems. Exclusion criteria for healthy volunteers of the study included: birth defects, congenital metabolic disorders, significant perinatal complications, chronic systemic disease (diabetes, kidney disease, hypertension, IBD), acute infections in the month preceding the study (diarrhea, respiratory tract infections), and chronic mental stress. The exclusion criterion for patients with CF was bronchopulmonary exacerbation. Nutritional status was assessed in all patients. Based on the questionnaire, IBD expression was assessed: CRP and albumin levels at the time of diagnosis and the worst flare, disease activity scales (PCDAI and PUCAI) at the time of diagnosis and the worst flare, other

conditions and extraintestinal symptoms. The location and behaviour of the disease was determined with the use of Paris Classification at the time of diagnosis and the worst flare. Data on the therapy used was collected (number of courses of systemic corticosteroids, first immunosuppressive treatment, biological treatment and surgical treatment). The data on the number of hospitalizations, the number of days of hospitalization, the number of exacerbations and the number of severe relapses since diagnosis was collected. The assessment of subjective psychophysical sensations in patients with IBD concerned: the subjective feeling of pain, anxiety and limitation of social activity measured in relation to three time points: at the time of diagnosis of the disease, during the worst flare and currently.

In all CF patients the clinical expression of the disease was assessed: lung function (FEV1%), exocrine pancreatic function (stool elastase-1), *Pseudomonas aeruginosa* colonization, sweat chloride at neonatal screening, co-occurrence of CF-related liver disease or liver cirrhosis, diabetes, nasal polyps, chronic sinusitis, gastroesophageal reflux disease, meconium ileus, other diseases, and genotype. In order to assess the severity of the disease, the data on frequency of exacerbations of bronchopulmonary disease, the number of one-day hospitalizations from birth to blood collection, the number of >1day hospitalizations since birth to recruitment, and the number of days of >1 day hospitalizations were collected.

Polymorphisms of genes encoding apolipoprotein E (*APOE*; rs7412, rs429358), DMBT1 protein (rs2981745, rs2981804) and SFTPD (rs2243639) were determined in patients with IBD. Selected polymorphisms were determined using a set of hybridization probes and TaqMan SNP Genotyping Assay primers. In the study assessing the relative length of telomeres in CF, the quantitative polymerase chain reaction method established by Cawthon et al. was used.

The frequency of the *APOE* $\epsilon 3/\epsilon 3$ genotype was lower in patients with IBD compared to controls, which is in line with previous reports. At the same time, a higher frequency of genotype $\epsilon 3/\epsilon 4$ was observed in the IBD group compared to healthy control. In addition, the *APOE* $\epsilon 2$ allele may be significantly associated with milder CD activity expressed by the PCDAI scale. Patients with IBD and the *APOE* $\epsilon 4$ allele presented lower CRP levels at the moment of worst flare and the effect was maintained only for UC patients.

Patients with IBD and AA genotype in rs2981804 polymorphism (*DMBT1*) had lower albumin levels when diagnosed, and this effect was true for patients with UC. Patients with UC and GG genotype showed higher CRP levels at diagnosis. Patients with the G + allele of the *DMBT1* rs2981804 polymorphism had lower values of standardized body weight and higher albumin levels. Patients with the G + allele presented cutaneous manifestations less frequently.

Among patients with UC, carriers of the TT variant in rs2981745 (*DMBT1*) polymorphism had higher CRP levels at diagnosis and at the time of the worst flare than carriers of the other variants.

Systemic corticosteroids were more commonly used in treatment of UC patients with T + allele rs2243639 (*SFTPD*).

Relative telomere lengths did not differ between CF patients and healthy volunteers. There was no difference in the relative length of telomeres between girls and boys for all study participants as well as in the CF group and control group. Patients treated with inhaled corticosteroids had a shorter RTL compared with those without corticosteroid therapy. Shorter telomeres were also independently associated with the presence of comorbidities and number of hospitalisations.

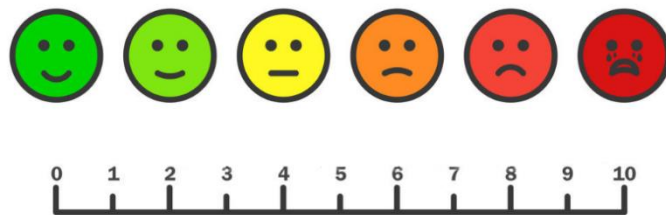
Future research into the mechanisms of action of the *SALSA*, *SFTPD* and *APOE* genes and proteins may be helpful in understanding the biology of IBD. Further research to understand the biology of telomeres in the context of CF may prove clinically helpful.

9. ANEKS

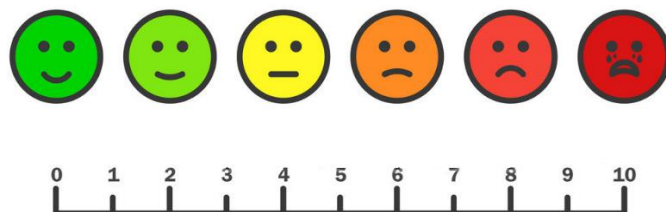
Ocena subiektywnych doznań psychofizycznych w trakcie przebiegu choroby przewlekłej

I. Subiektywne odczucie bólu

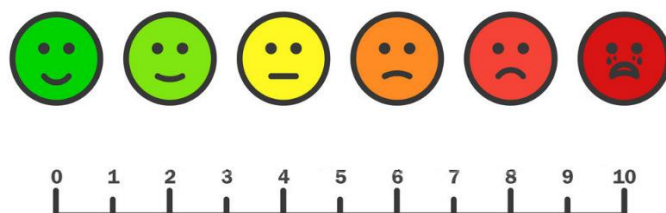
1. Na poniższej skali 10 stopniowej wskaż natężenie bólu jakie towarzyszyło Ci w momencie rozpoznania choroby.



2. Na poniższej skali 10 stopniowej wskaż natężenie bólu jaki towarzyszył Ci w okresie najintensywniejszego nasilenia dolegliwości.

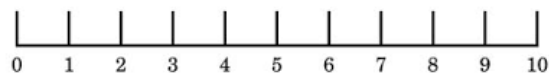


3. Na poniższej skali 10 stopniowej wskaż natężenie bólu jaki towarzyszy Ci aktualnie.

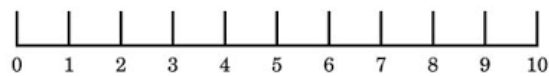


II. Subiektywne odczucie niepokoju (lęku)

1. Wskaż na skali 10-stopniowej poziom odczuwanego przez siebie lęku związanego z chorobą i leczeniem jaki odczuwałeś w **okresie rozpoznania choroby** (0 – brak niepokoju, 10 – niewyobrażalny lęk).



2. Wskaż na skali 10-stopniowej poziom odczuwanego przez siebie lęku związanego z chorobą i leczeniem w **okresie największego natężenia objawów chorobowych** (0 – brak niepokoju, 10 – niewyobrażalny lęk).



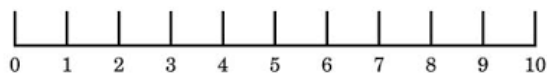
3. Wskaż na skali 10- stopniowej poziom odczuwanego przez siebie lęku związanego z chorobą i leczeniem jakiego doznajesz **aktualnie** (0 – brak niepokoju, 10 – niewyobrażalny lęk).



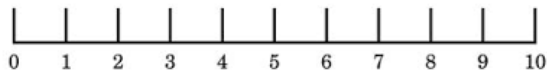
III. Ograniczenia aktywności społecznej (kontakty towarzyskie, szkoła/przedszkole)

1.

a) Wskaż w jakim stopniu **pierwsze objawy (okres rozpoznania)** choroby ograniczyły twoje kontakty koleżeńskie (0 – nie miały wpływu, 10 – miały maksymalny wpływ).



b) Wskaż w jakim stopniu **pierwsze objawy (okres rozpoznania)** choroby ograniczyły twoje uczestnictwo w zajęciach szkolnych/przedszkolnych (0 – nie miały wpływu, 10 – miały maksymalny wpływ).

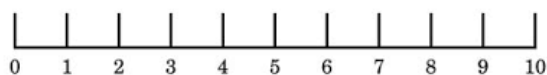


2.

a) Wskaż na ile **największe natężenie objawów** chorobowych ograniczyło twoje kontakty koleżeńskie (0 – nie miało wpływu, 10 – miało maksymalny wpływ).

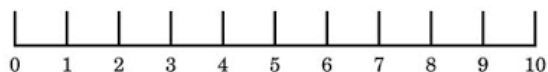


b) Wskaż na ile **największe natężenie objawów** chorobowych ograniczyło twoje uczestnictwo w zajęciach szkolnych/przedszkolnych (0 – nie miało wpływu, 10 – miało maksymalny wpływ).

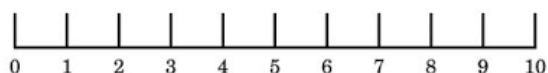


3.

- a) Wskaż w jakim stopniu choroba ogranicza twoje kontakty koleżeńskie **aktualnie**.
(0 – nie miała wpływu, 10 – miała maksymalny wpływ).



- b) Wskaż w jakim stopniu choroba ogranicza twoje uczestnictwo w zajęciach szkolnych/ przedszkolnych **aktualnie**. (0 – nie miała wpływu, 10 – miała maksymalny wpływ).



11. PIŚMIENICTWO

1. Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1989;170:2–6; 16-19.
2. Abraham C, Cho JH. Inflammatory Bowel Disease. *N Engl J Med.* 2009 19;361(21):2066–78.
3. Dutta AK, Chacko A. Influence of environmental factors on the onset and course of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2016;22(3):1088–100.
4. Lim ML, Wallace MR. Infectious diarrhea in history. *Infect Dis Clin North Am.* 2004;18(2):261–74.
5. François Joseph Victor Broussais (1772-1838). System of physiological medicine. *JAMA.* 1969;209(10):1523.
6. Wilks S. Morbid appearances in the intestines of Miss Bankes. *Lond Med Gaz.* 1859;(2):264–265.
7. White H. A discussion on “ulcerative colitis.” Introductory address *Proc R Soc Med* 2 1909 79–82.
8. Allechin W.H. A discussion on “ulcerative colitis”: introductory address. *Proc R Soc Med* 2 1909 59–75.
9. Lockhart-Mummery J.P. A discussion on ulcerative colitis. *Proc R Soc Med* 2 1909 92–94.
10. Hawkins H.P. An address on the natural history of ulcerative colitis and its bearing on treatment *Br Med J* 1 1909 765–770.
11. Lewisohn R. Segmental enteritis *Surg Gynecol Obstet* 66 1938 215–222.
12. Hewitt J.H., Howard W.T. Chronic ulcerative colitis with polyps: a consideration of the so-called colitis polyposa (Virchow) *Arch Intern Med* 15 1915 714–723.
13. Wangensteen OH, Toon RW. Primary resection of the colon and rectum with particular reference to cancer and ulcerative colitis. *Am J Surg.* 1948;75(2):384–404.
14. Helmholz H.F. Chronic ulcerative colitis in childhood *Arch Pediatr Adolesc Med* 26 1923 418–430.
15. Brown Y.J. The value of complete physiological rest of the large bowel in the treatment of ulcerative and obstructive lesions of this organ. *Surg Gynecol Obstet* 1913;16:610.
16. Bourne G. Chronic ulcerative colitis in children *Arch Dis Child* 1 1926 175–181.
17. Cattell RB. Closure of ileostomy in ulcerative colitis. *Ann Surg.* 1942;115(6):956–68.
18. Wright A.D. Ulcerative colitis complicated by polyarthritis treated by total colectomy. *Proc R Soc Med* 35 1942 189–190.
19. Gill A.M. Treatment of ulcerative colitis with intestinal mucosa *Proc R Soc Med* 39 1946 517–519.
20. Burnford J. Ulcerative colitis: its treatment by ionization: summary of twenty-eight cases *Br Med J* 2 1930 640–641.
21. Warren S, Sommers SC. Pathogenesis of ulcerative colitis. *Am J Pathol.* 1949;25(4):657–79.

22. Jobb E, Finkelstein A. Interesting X-ray findings in a case of acute fulminating ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 1947;8(2):213–20.
23. Sullivan AJ, Chandler CA. Ulcerative Colitis of Psychogenic Origin: A Report of Six Cases. *Yale J Biol Med*. 1932;4(6):779–96.
24. Wittkower E. Ulcerative colitis: studies of personality *Br Med J* 2 1938 1356–1360. In.
25. West R. Psychotherapy of ulcerative colitis. *Lancet Lond Engl*. 1946;2(6434):899–903.
26. Sloan WP, Barga JA, Gage RP. Life histories of patients with chronic ulcerative colitis: a review of 2,000 cases. *Gastroenterology*. 1950;16(1):25–38.
27. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in Ulcerative Colitis. *BMJ*. 1955;2(4947):1041–8.
28. Svartz M. The treatment of 124 cases of ulcerative colitis with salazopyrine and attempts of desensibilization in cases of hypersensitiveness to sulfa. *Acta Med Scand*. 1948;131(Suppl 206):465–72.
29. Kirsner JB. Historical origins of medical and surgical therapy of inflammatory bowel disease. *Lancet Lond Engl*. 1998;352(9136):1303–5.
30. Bean RH. The treatment of chronic ulcerative colitis with 6-mercaptopurine. *Med J Aust*. 1962;49(2):592–3.
31. Bean RHD. Treatment of Ulcerative Colitis with Antimetabolites. *BMJ*. 1966;1(5495):1081–4.
32. Jewell DP, Truelove SC. Azathioprine in Ulcerative Colitis: Final Report on Controlled Therapeutic Trial. *BMJ*. 1974;4(5945):627–30.
33. Caprilli R, Carratù R, Babbini M. Double-blind comparison of the effectiveness of azathioprine and sulfasalazine in idiopathic proctocolitis. Preliminary report. *Am J Dig Dis*. 1975;20(2):115–20.
34. Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Hum Genet*. 1980;32(5):651–62.
35. Beutler B, Milsark I, Cerami A. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science*. 1985;229(4716):869–71.
36. Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 2005;353(23):2462–76.
37. Baron J.H.: Inflammatory Bowel Disease up to 1932. *The Mt. Sinai J. Med.*, 2000, 67, 3, 174–189.
38. Zawadzka P. Nieswoiste zapalenia jelit – wczoraj i dziś. *Nowiny Lekarskie*. 2006;75(5):480–485.
39. Adams E.W. Founders of modern medicine: Giovanni Battista Morgagni (1682–1771) *Med Libr Hist J* 1 1903 270–277.
40. Morgagni G.B. *Seat and Causes of Diseases* 1960 Hafner Publishing New York 64–66.
41. Fielding J.F. “Inflammatory” bowel disease *Br Med J (Clin Res Ed)* 290 1985 47–48.
42. Aufses AH. The History of Crohn’s Disease. *Surg Clin North Am*. 2001;81(1):1–11.
43. Smith M.S., Wakefield A.J. Crohn’s disease: ancient and modern *Postgrad Med J* 70 1994 149–153.

44. Leśniowski, A. przyczynek do chirurgii kiszek. „Medycyna (Warszawa)”. 31, s. 460-464, 483-489, 514-518, 1903.
45. Dalziel T.K. Chronic interstitial enteritis Br Med J 2 1913 1068-1070.
46. Crohn BB. Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. J Am Med Assoc. 1932;99(16):1323.
47. Bartnik W. Wytyczne postępowania w nieswoistych chorobach zapalnych jelit. Przegląd Gastroenterologiczny.2007; 2(5).
48. Ginzburg L. Regional enteritis: historical perspective Gastroenterology 90 1986 1310-1311.
49. Kirsner J.B. Crohn’s disease: yesterday, today, and tomorrow Gastroenterology 112 1997 1028-1030.
50. Franklin R.H., Taylor S. Nonspecific granulomatous (regional) esophagitis J Thorac Surg 19 1950 292-297.
51. Ross J.R. Cicatrizing enteritis, colitis and gastritis; a case report Gastroenterology 13 1949 344-350.
52. Gottlieb C., Alpert S. Regional jejunitis Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med 38 1937 881-883.
53. Meyer A.C., Matthews A.R. Acute regional ileitis in an 80-year-old male. Ill Med J 1949;95:367.
54. Ravdin I.S., Johnston C.G., Shapiro R. Regional ileitis: summary of literature Am J Med Sci 198 1939 269-292.
55. Hughes C.W., Baugh J.H., Mologne L.A., Heaton L.D. A review of the late General Eisenhower’s operations: epilog to a footnote to history Ann Surg 173 1971 793-799.
56. Lockhart-Mummery H.E., Morson B.C. Crohn’s disease (regional enteritis) of the large intestine and its distinction from ulcerative colitis Gut 1 1960 87-105.
57. Farmer R.G. The clinical evolution of inflammatory bowel disease, 1960-2010: an eyewitness account Am J Gastroenterol 105 2010 1922-1924.
58. Farrokhyar F, Swarbrick ET, Irvine EJ. A critical review of epidemiological studies in inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol. 2001;36(1):2-15.
59. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. The Lancet. 2017;390(10114):2769-78.
60. Kaplan GG. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015;12(12):720-7.
61. Kaplan GG, Ng SC. Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterology. 2017;152(2):313-321.e2.
62. Alatab S, Sepanlou SG, Ikuta K, Vahedi H, Bisignano C, Safiri S, et al. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020;5(1):17-30.
63. Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. Nature. 2007;448(7152):427-34.

64. Zhang Y-Z. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014;20(1):91.
65. Birrenbach T, Böcker U. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm Bowel Dis.* 2004;10(6):848–59.
66. Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? *World J Gastroenterol.* 2007;13(46):6134–9.
67. Owczarek D, Rodacki T, Domagała-Rodacka R, Cibor D, Mach T. Diet and nutritional factors in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2016;22(3):895–905.
68. Tubbs AL, Liu B, Rogers TD, Sartor RB, Miao EA. Dietary Salt Exacerbates Experimental Colitis. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2017;199(3):1051–9.
69. Ananthkrishnan AN, Higuchi LM, Huang ES, Khalili H, Richter JM, Fuchs CS, et al. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and risk for Crohn disease and ulcerative colitis: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2012;156(5):350–9.
70. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. *Pediatrics.* 2012;130(4):e794-803.
71. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(12):2687–92.
72. Cámara RJA, Schoepfer AM, Pittet V, Begré S, von Känel R, Swiss Inflammatory Bowel Disease Cohort Study (SIBDCS) Group. Mood and nonmood components of perceived stress and exacerbation of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17(11):2358–65.
73. Mawdsley JE, Rampton DS. The role of psychological stress in inflammatory bowel disease. *Neuroimmunomodulation.* 2006;13(5–6):327–36.
74. Kaplan GG, Hubbard J, Korzenik J, Sands BE, Panaccione R, Ghosh S, et al. The inflammatory bowel diseases and ambient air pollution: a novel association. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(11):2412–9.
75. Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology.* 2004;126(6):1504–17.
76. Piovani D, Danese S, Peyrin-Biroulet L, Nikolopoulos GK, Lytras T, Bonovas S. Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Diseases: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Gastroenterology.* 2019;157(3):647-659.e4.
77. Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut.* 2011;60(5):631–7.
78. Andoh A, Imaeda H, Aomatsu T, Inatomi O, Bamba S, Sasaki M, et al. Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *J Gastroenterol.* 2011;46(4):479–86.
79. Martinez C, Antolin M, Santos J, Torrejon A, Casellas F, Borrueal N, et al. Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *Am J Gastroenterol.* 2008;103(3):643–8.
80. Grimes DS. *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis as a cause of Crohn's disease. *Gut.* 2003;52(1):155.

81. Hugot J-P, Alberti C, Berrebi D, Bingen E, Cézard J-P. Crohn's disease: the cold chain hypothesis. *Lancet Lond Engl.* 2003;362(9400):2012–5.
82. Karlinger K, Györke T, Makö E, Mester A, Tarján Z. The epidemiology and the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Eur J Radiol.* 2000;35(3):154–67.
83. Wilck N, Matus MG, Kearney SM, Olesen SW, Forslund K, Bartolomaeus H, et al. Salt-responsive gut commensal modulates TH17 axis and disease. *Nature.* 2017;551(7682):585–9.
84. Wawrzyniak M, Scharl M. Genetics and epigenetics of inflammatory bowel disease. *Swiss Med Wkly.* 2018;148:w14671.
85. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001;411(6837):599–603.
86. Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugerie L, et al. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature.* 1996;379(6568):821–3.
87. Economou M, Trikalinos TA, Loizou KT, Tsianos EV, Ioannidis JPA. Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metaanalysis. *Am J Gastroenterol.* 2004;99(12):2393–404.
88. Henckaerts L, Van Steen K, Verstreken I, Cleynen I, Franke A, Schreiber S, et al. Genetic risk profiling and prediction of disease course in Crohn's disease patients. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2009;7(9):972-980.e2.
89. Hampe J, Grebe J, Nikolaus S, Solberg C, Croucher PJP, Mascheretti S, et al. Association of NOD2 (CARD 15) genotype with clinical course of Crohn's disease: a cohort study. *Lancet Lond Engl.* 2002;359(9318):1661–5.
90. Ahmad T, Armuzzi A, Bunce M, Mulcahy-Hawes K, Marshall SE, Orchard TR, et al. The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2002;122(4):854–66.
91. Seiderer J, Brand S, Herrmann KA, Schnitzler F, Hatz R, Crispin A, et al. Predictive value of the CARD15 variant 1007fs for the diagnosis of intestinal stenoses and the need for surgery in Crohn's disease in clinical practice: results of a prospective study. *Inflamm Bowel Dis.* 2006;12(12):1114–21.
92. Abreu MT, Taylor KD, Lin Y-C, Hang T, Gaiennie J, Landers CJ, et al. Mutations in NOD2 are associated with fibrostenosing disease in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2002;123(3):679–88.
93. Weersma RK, Stokkers PCF, van Bodegraven AA, van Hogezaand RA, Verspaget HW, de Jong DJ, et al. Molecular prediction of disease risk and severity in a large Dutch Crohn's disease cohort. *Gut.* 2009;58(3):388–95.
94. Solon JG, Burke JP, Walsh SR, Coffey JC. The effect of NOD2 polymorphism on postsurgical recurrence in Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis of available literature. *Inflamm Bowel Dis.* 2013;19(5):1099–105.
95. Adler J, Rangwalla SC, Dwamena BA, Higgins PDR. The prognostic power of the NOD2 genotype for complicated Crohn's disease: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(4):699–712.

96. Lee JC, Espéli M, Anderson CA, Linterman MA, Pocock JM, Williams NJ, et al. Human SNP links differential outcomes in inflammatory and infectious disease to a FOXO3-regulated pathway. *Cell*. 2013;155(1):57–69.
97. Goyette P, Boucher G, Mallon D, Ellinghaus E, Jostins L, Huang H, et al. High-density mapping of the MHC identifies a shared role for HLA-DRB1*01:03 in inflammatory bowel diseases and heterozygous advantage in ulcerative colitis. *Nat Genet*. 2015;47(2):172–9.
98. Ahmad T, Armuzzi A, Neville M, Bunce M, Ling K-L, Welsh KI, et al. The contribution of human leucocyte antigen complex genes to disease phenotype in ulcerative colitis. *Tissue Antigens*. 2003;62(6):527–35.
99. Hertz R., Li M.C., Spencer D.B. Effect of methotrexate therapy upon choriocarcinoma and choriadenoma *Proc Soc Exp Biol Med* 93 1956 361–366.
100. Kozarek R.A., Patterson D.J., Gelfand M.D., Botoman V.A., Ball T.J., Wilske K.R. Methotrexate induces clinical and histologic remission in patients with refractory inflammatory bowel disease *Ann Intern Med* 110 1989 353–356.
101. Hitchings G.H. Jr.. Nobel lecture in physiology or medicine — 1988. Selective inhibitors of dihydrofolate reductase *In Vitro Cell Dev Biol* 25 1989 303–310.
102. Ardizzone S., Cassinotti A., de Franchis R. Immunosuppressive and biologic therapy for ulcerative colitis *Expert Opin Emerg Drugs* 17 2012 449–467.
103. Rocchio M.A., Cha C.J., Haas K.F., Randall H.T. Use of chemically defined diets in the management of patients with acute inflammatory bowel disease *Am J Surg* 127 1974 469–475.
104. Chan S-N, Low END, Raja Ali RA, Mokhtar NM. Delineating inflammatory bowel disease through transcriptomic studies: current review of progress and evidence. *Intest Res*. 2018;16(3):374–83.
105. Busch R. On the history of cystic fibrosis. *Acta Univ Carol [Med] (Praha)*. 1990;36(1–4):13–5.
106. Fanconi, G., Uehlinger, E., Knauer, C., Das coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer pankreasfibromatose und bronchiektasien (1936) *Wiener Klein. Wochen.*, 86, pp. 753-756.
107. Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study. *Am J Dis Child* 1938; 56:344-9-9.
108. Quinton, P.M. Physiological Basis of Cystic Fibrosis: A Historical Perspective. *Physiological Reviews* 1999; 79(1): 3-22.
109. Di Sant’Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas: clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics*. 1953;12:549-563.
110. Barben J, Gallati S, Fingerhut R, Schoeni MH, Baumgartner MR, Torresani T. Retrospective analysis of stored dried blood spots from children with cystic fibrosis and matched controls to assess the performance of a proposed newborn screening protocol in Switzerland. *J Cyst Fibros*. 2012;11(4):332–6.
111. Sands D, Zybert K, Mierzejewska E, Oltarzewski M. Diagnosing cystic fibrosis in newborn screening in Poland - 15 years of experience. *Dev Period Med*. 2015;19(1):16–24.
112. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science*. 1989;245(4922):1073–80.

113. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989;245(4922):1066–73.
114. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science*. 1989;245(4922):1059–65.
115. Elborn JS. Cystic fibrosis. *The Lancet*. 2016;388(10059):2519–31.
116. Farrell PM. The prevalence of cystic fibrosis in the European Union. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc*. 2008;7(5):450–3.
117. Sobczyńska-Tomaszewska A, Ołtarzewski M, Czerska K, Wertheim-Tysarowska K, Sands D, Walkowiak J, et al. Newborn screening for cystic fibrosis: Polish 4 years' experience with CFTR sequencing strategy. *Eur J Hum Genet*. 2013;21(4):391–6.
118. Cofta S. Living better and longer with cystic fibrosis. *Adv Respir Med*. 2016;84(6):307–9.
119. Jackson AD, Goss CH. Epidemiology of CF: How registries can be used to advance our understanding of the CF population. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc*. 2018;17(3):297–305.
120. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2017 Annual Data Report Bethesda, Maryland ©2018 Cystic Fibrosis Foundation.
121. Maiuri L, Raia V, Kroemer G. Strategies for the etiological therapy of cystic fibrosis. *Cell Death Differ*. 2017;24(11):1825–44.
122. Castellani C, Cuppens H, Macek M, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc*. 2008;7(3):179–96.
123. Walkowiak J., Pogorzelski A., Sands D., Skorupa W., Milanowski A., Nowakowska A. et al. Zasady rozpoznawania i leczenia mukowiscydozy. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Mukowiscydozy 2009 Poznań-Warszawa-Rzeszów. *Stand Med*, 2009, 6, s. 352-378.
124. Boyle MP, Bell SC, Konstan MW, McColley SA, Rowe SM, Rietschel E, et al. A CFTR corrector (lumacaftor) and a CFTR potentiator (ivacaftor) for treatment of patients with cystic fibrosis who have a phe508del CFTR mutation: a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2014;2(7):527–38.
125. Jain R, Mall M, Dřevinek P, Lands L, McKone E, Polineni D, Ramsey B, Taylor-Cousar J, Tullis E, Vermeulen F, Marigowda G, McKee C, Moskowitz S, Nair N, Savage J, Simard C, Tian S, Waltz D, Xuan F, Rowe S, Middleton P. PHASE 3 Efficacy and safety of the ELX/TEZ/IVA triple combination in people with CF and F508del/minimal function genotypes. *Pediatric Pulmonology*. 2019(54):S346-S347.
126. Middleton PG, Mall MA, Dřevinek P, Lands LC, McKone EF, Polineni D, et al. Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele. *N Engl J Med*. 2019;381(19):1809–19.
127. Watson JD, Crick FH. The structure of DNA. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1953;18:123–31.
128. Weinberg, R. *The Biology of Cancer*, Garland Science 2nd edition, 2014 p.221, p.382, p.393, p.423 p.478.
129. Greider CW, Blackburn EH. A telomeric sequence in the RNA of Tetrahymena telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature*. 1989;337(6205):331–7.

130. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell*. 1985;43(2 Pt 1):405–13.
131. Zakian VA. Telomeres: The beginnings and ends of eukaryotic chromosomes. *Exp Cell Res*. 2012;318(12):1456–60.
132. Szostak JW, Blackburn EH. Cloning yeast telomeres on linear plasmid vectors. *Cell*. 1982;29(1):245–55.
133. Bischoff C, Petersen HC, Graakjaer J, Andersen-Ranberg K, Vaupel JW, Bohr VA, et al. No association between telomere length and survival among the elderly and oldest old. *Epidemiol Camb Mass*. 2006;17(2):190–4.
134. Wills LP, Schnellmann RG. Telomeres and Telomerase in Renal Health. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(1):39–41.
135. Dlouha D, Maluskova J, Kralova Lesna I, Lanska V, Hubacek JA. Comparison of the relative telomere length measured in leukocytes and eleven different human tissues. *Physiol Res*. 2014;63 Suppl 3:S343-350.
136. Wiemann SU, Satyanarayana A, Tsahuridu M, Tillmann HL, Zender L, Klempnauer J, et al. Hepatocyte telomere shortening and senescence are general markers of human liver cirrhosis. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2002;16(9):935–42.
137. Kitada T, Seki S, Kawakita N, Kuroki T, Monna T. Telomere shortening in chronic liver diseases. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;211(1):33–9.
138. Guo N, Parry EM, Li L-S, Kembou F, Lauder N, Hussain MA, et al. Short telomeres compromise β -cell signaling and survival. *PLoS One*. 2011;6(3):e17858.
139. Polychronopoulou S, Koutroumba P. Telomere length and telomerase activity: variations with advancing age and potential role in childhood malignancies. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2004;26(6):342–50.
140. Jenkins EC, Velinov MT, Ye L, Gu H, Li S, Jenkins EC, et al. Telomere shortening in T lymphocytes of older individuals with Down syndrome and dementia. *Neurobiol Aging*. 2006;27(7):941–5.
141. Brouillette S, Singh RK, Thompson JR, Goodall AH, Samani NJ. White cell telomere length and risk of premature myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(5):842–6.
142. Bojesen SE. Telomeres and human health. *J Intern Med*. 2013;274(5):399–413.
143. Rossi D, Lobetti Bodoni C, Genuardi E, Monitillo L, Drandi D, Cerri M, et al. Telomere length is an independent predictor of survival, treatment requirement and Richter's syndrome transformation in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2009;23(6):1062–72.
144. Rall SC, Weisgraber KH, Mahley RW. Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. *J Biol Chem*. 1982;257(8):4171–8.
145. Shore VG, Shore B. Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins. Separation of species differing in protein components. *Biochemistry*. 1973;12(3):502–7.
146. Utermann G, Hees M, Steinmetz A. Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nature*. 1977;269(5629):604–7.
147. Zannis VI, Breslow JL, Utermann G, Mahley RW, Weisgraber KH, Havel RJ, et al. Proposed nomenclature of apoE isoproteins, apoE genotypes, and phenotypes. *J Lipid Res*. 1982;23(6):911–4.

148. Weisgraber KH, Rall SC, Mahley RW. Human E apoprotein heterogeneity. Cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apo-E isoforms. *J Biol Chem.* 1981;256(17):9077–83.
149. Roses AD. On the discovery of the genetic association of Apolipoprotein E genotypes and common late-onset Alzheimer disease. *J Alzheimers Dis JAD.* 2006;9(3 Suppl):361–6.
150. Corder E, Saunders A, Strittmatter W, Schmechel D, Gaskell P, Small G, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science.* 1993;261(5123):921–3.
151. Artiga MJ, Bullido MJ, Sastre I, Recuero M, García MA, Aldudo J, et al. Allelic polymorphisms in the transcriptional regulatory region of apolipoprotein E gene. *FEBS Lett.* 1998;421(2):105–8.
152. Mahley R. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science.* 1988;240(4852):622–30.
153. Toms TE, Smith JP, Panoulas VF, Blackmore H, Douglas KMJ, Kitas GD. Apolipoprotein E gene polymorphisms are strong predictors of inflammation and dyslipidemia in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2012;39(2):218–25.
154. Coto-Segura P, Coto E, Alvarez V, Morales B, Soto-Sánchez J, Corao AI, et al. Apolipoprotein epsilon4 allele is associated with psoriasis severity. *Arch Dermatol Res.* 2010;302(2):145–9.
155. Furumoto H, Nakamura K, Imamura T, Hamamoto Y, Shimizu T, Muto M, et al. Association of apolipoprotein allele epsilon 2 with psoriasis vulgaris in Japanese population. *Arch Dermatol Res.* 1997;289(9):497–500.
156. Avila EM, Holdsworth G, Sasaki N, Jackson RL, Harmony JA. Apoprotein E suppresses phytohemagglutinin-activated phospholipid turnover in peripheral blood mononuclear cells. *J Biol Chem.* 1982;257(10):5900–9.
157. Schumacher K, Maerker-Alzer G, Wehmer U. A lymphocyte-inhibiting factor isolated from normal human liver. *Nature.* 1974;251(5476):655–6.
158. Hui DY, Harmony JA. Phosphatidylinositol turnover in mitogen-activated lymphocytes. Suppression by low-density lipoproteins. *Biochem J.* 1980;192(1):91–8.
159. Terkeltaub RA, Dyer CA, Martin J, Curtiss LK. Apolipoprotein (apo) E inhibits the capacity of monosodium urate crystals to stimulate neutrophils. Characterization of intraarticular apo E and demonstration of apo E binding to urate crystals in vivo. *J Clin Invest.* 1991;87(1):20–6.
160. Vitek MP, Brown CM, Colton CA. APOE genotype-specific differences in the innate immune response. *Neurobiol Aging.* 2009;30(9):1350–60.
161. Colton CA, Brown CM, Czapiga M, Vitek MP. Apolipoprotein-E allele-specific regulation of nitric oxide production. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;962:212–25.
162. Colton CA, Brown CM, Cook D, Needham LK, Xu Q, Czapiga M, et al. APOE and the regulation of microglial nitric oxide production: a link between genetic risk and oxidative stress. *Neurobiol Aging.* 2002;23(5):777–85.
163. Zhang H-L, Wu J, Zhu J. The immune-modulatory role of apolipoprotein E with emphasis on multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clin Dev Immunol.* 2010;2010:186813.
164. Zhang H, Wu L-M, Wu J. Cross-Talk between Apolipoprotein E and Cytokines. *Mediators Inflamm.* 2011;2011:1–10.

165. Maezawa I, Nivison M, Montine KS, Maeda N, Montine TJ. Neurotoxicity from innate immune response is greatest with targeted replacement of E4 allele of apolipoprotein E gene and is mediated by microglial p38MAPK. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2006;20(6):797–9.
166. Saura J, Petegnief V, Wu X, Liang Y, Paul SM. Microglial apolipoprotein E and astroglial apolipoprotein J expression in vitro: opposite effects of lipopolysaccharide. *J Neurochem.* 2003;85(6):1455–67.
167. Werb Z, Chin JR. Apoprotein E is synthesized and secreted by resident and thioglycollate-elicited macrophages but not by pyran copolymer- or bacillus Calmette-Guerin-activated macrophages. *J Exp Med.* 1983;158(4):1272–93.
168. Levy E, Rizwan Y, Thibault L, Lepage G, Brunet S, Bouthillier L, et al. Altered lipid profile, lipoprotein composition, and oxidant and antioxidant status in pediatric Crohn disease. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(3):807–15.
169. Hrabovský V, Zadák Z, Bláha V, Hyspler R, Karlík T, Martínek A, et al. Cholesterol metabolism in active Crohn's disease. *Wien Klin Wochenschr.* 2009;121(7–8):270–5.
170. Al-Meghaiseb ES, Al-Otaibi MM, Al-Robayan A, Al-Amro R, Al-Malki AS, Arfin M, et al. Genetic association of apolipoprotein E polymorphisms with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2015;21(3):897–904.
171. Hansen PL, Blaich S, End C, Schmidt S, Moeller JB, Holmskov U, et al. The pattern recognition molecule deleted in malignant brain tumors 1 (DMBT1) and synthetic mimics inhibit liposomal nucleic acid delivery. *Chem Commun Camb Engl.* 2011;47(1):188–90.
172. Mollenhauer J, Wiemann S, Scheurlen W, Korn B, Hayashi Y, Wilgenbus KK, et al. DMBT1, a new member of the SRCR superfamily, on chromosome 10q25.3-26.1 is deleted in malignant brain tumours. *Nat Genet.* 1997;17(1):32–9.
173. Kang W, Reid KBM. DMBT1, a regulator of mucosal homeostasis through the linking of mucosal defense and regeneration? *FEBS Lett.* 2003;540(1–3):21–5.
174. Madsen J, Mollenhauer J, Holmskov U. Review: Gp-340/DMBT1 in mucosal innate immunity. *Innate Immun.* 2010;16(3):160–7.
175. Reichhardt MP, Meri S. SALSA: A Regulator of the Early Steps of Complement Activation on Mucosal Surfaces. *Front Immunol.* 2016;7.
176. Reichhardt MP, Holmskov U, Meri S. SALSA—A dance on a slippery floor with changing partners. *Mol Immunol.* 2017;89:100–10.
177. Ericson T, Rundegren J. Characterization of a Salivary Agglutinin Reacting with a Serotype c Strain of *Streptococcus mutans*. *Eur J Biochem.* 1983;133(2):255–61.
178. Holmskov U, Lawson P, Teisner B, Tornøe I, Willis AC, Morgan C, et al. Isolation and characterization of a new member of the scavenger receptor superfamily, glycoprotein-340 (gp-340), as a lung surfactant protein-D binding molecule. *J Biol Chem.* 1997;272(21):13743–9.
179. Reichhardt MP, Loimaranta V, Thiel S, Finne J, Jarva H, Meri S. The salivary scavenger and agglutinin (SALSA) binds MBL and regulates the lectin pathway of complement in solution and on surfaces. *Immunobiology.* 2012;217(11):1212.
180. Holmskov U, Mollenhauer J, Madsen J, Vitved L, Gronlund J, Tornøe I, et al. Cloning of gp-340, a putative opsonin receptor for lung surfactant protein D. *Proc Natl Acad Sci.* 1999;96(19):10794–9.

181. Mollenhauer J, Helmke B, Müller H, Kollender G, Lyer S, Diedrichs L, et al. Sequential changes of the DMBT1 expression and location in normal lung tissue and lung carcinomas: Sequential Changes of DMBT1 Expression and Location. *Genes Chromosomes Cancer*. 2002;35(2):164–9.
182. Mollenhauer J, Holmskov U, Wiemann S, Krebs I, Herbertz S, Madsen J, et al. The genomic structure of the DMBT1 gene: evidence for a region with susceptibility to genomic instability. *Oncogene*. 1999;18(46):6233–40.
183. Mollenhauer J, Herbertz S, Holmskov U, Tolnay M, Krebs I, Merlo A, et al. DMBT1 encodes a protein involved in the immune defense and in epithelial differentiation and is highly unstable in cancer. *Cancer Res*. 2000;60(6):1704–10.
184. Diegelmann J, Czamara D, Le Bras E, Zimmermann E, Olszak T, Bedynek A, et al. Intestinal DMBT1 expression is modulated by Crohn's disease-associated IL23R variants and by a DMBT1 variant which influences binding of the transcription factors CREB1 and ATF-2. *PLoS One*. 2013;8(11):e77773.
185. Sasaki H, Betensky RA, Cairncross JG, Louis DN. DMBT1 polymorphisms: relationship to malignant glioma tumorigenesis. *Cancer Res*. 2002;62(6):1790–6.
186. Eriksson C, Frängsmyr L, Danielsson Niemi L, Loimaranta V, Holmskov U, Bergman T, et al. Variant size- and glycoforms of the scavenger receptor cysteine-rich protein gp-340 with differential bacterial aggregation. *Glycoconj J*. 2007;24(2–3):131–42.
187. Loimaranta V, Jakobovics NS, Hytonen J, Finne J, Jenkinson HF, Stromberg N. Fluid- or Surface-Phase Human Salivary Scavenger Protein gp340 Exposes Different Bacterial Recognition Properties. *Infect Immun*. 2005;73(4):2245–52.
188. Reichhardt MP, Jarva H, de Been M, Rodriguez JM, Jimenez Quintana E, Loimaranta V, et al. The Salivary Scavenger and Agglutinin in Early Life: Diverse Roles in Amniotic Fluid and in the Infant Intestine. *J Immunol*. 2014;193(10):5240–8.
189. Holmskov U, Mollenhauer J, Madsen J, Vitved L, Gronlund J, Tornøe I, et al. Cloning of gp-340, a putative opsonin receptor for lung surfactant protein D. *Proc Natl Acad Sci*. 1999;96(19):10794–9.
190. Haukioja A, Loimaranta V, Tenovuori J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. *Oral Microbiol Immunol*. 2008;23(4):336–43.
191. Jumblatt MM, Imbert Y, Young WW, Foulks GN, Steele PS, Demuth DR. Glycoprotein 340 in Normal Human Ocular Surface Tissues and Tear Film. *Infect Immun*. 2006;74(7):4058–63.
192. Prakobphol A, Xu F, Hoang VM, Larsson T, Bergstrom J, Johansson I, et al. Salivary Agglutinin, Which Binds *Streptococcus mutans* and *Helicobacter pylori*, Is the Lung Scavenger Receptor Cysteine-rich Protein gp-340. *J Biol Chem*. 2000;275(51):39860–6.
193. Rosenstiel P, Sina C, End C, Renner M, Lyer S, Till A, et al. Regulation of DMBT1 via NOD2 and TLR4 in Intestinal Epithelial Cells Modulates Bacterial Recognition and Invasion. *J Immunol*. 2007;178(12):8203–11.
194. Hartshorn KL, White MR, Mogues T, Ligtenberg T, Crouch E, Holmskov U. Lung and salivary scavenger receptor glycoprotein-340 contribute to the host defense against influenza A viruses. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. 2003;285(5):L1066–76.
195. Nagashunmugam T, Malamud D, Davis C, Abrams WR, Friedman HM. Human Submandibular Saliva Inhibits Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection by Displacing Envelope Glycoprotein gp120 from the Virus. *J Infect Dis*. 1998;178(6):1635–41.

196. Boackle RJ, Connor MH, Vesely J. High molecular weight Non-Immunoglobulin Salivary Agglutinins (NIA) bind C1q globular heads and have the potential to activate the first complement component. *Mol Immunol*. 1993;30(3):309–19.
197. Madsen J, Sorensen GL, Nielsen O, Tornøe I, Thim L, Fenger C, et al. A Variant Form of the Human Deleted in Malignant Brain Tumor 1 (DMBT1) Gene Shows Increased Expression in Inflammatory Bowel Diseases and Interacts with Dimeric Trefoil Factor 3 (TFF3). Thomas PG, editor. *PLoS ONE*. 2013;8(5):e64441.
198. Oho T, Bikker FJ, Nieuw Amerongen AV, Groenink J. A Peptide Domain of Bovine Milk Lactoferrin Inhibits the Interaction between Streptococcal Surface Protein Antigen and a Salivary Agglutinin Peptide Domain. *Infect Immun*. 2004;72(10):6181–4.
199. Reichhardt MP, Jarva H, Lokki AI, Laivuori H, FINNPEC study group, Vuorela P, et al. The Salivary Scavenger and Agglutinin (SALSA) in Healthy and Complicated Pregnancy. Zenclussen AC, editor. *PLOS ONE*. 2016;11(2):e0147867.
200. Thornton DJ, Davies JR, Kirkham S, Gautrey A, Khan N, Richardson PS, et al. Identification of a nonmucin glycoprotein (gp-340) from a purified respiratory mucin preparation: evidence for an association involving the MUC5B mucin. *Glycobiology*. 2001;11(11):969–77.
201. Tino MJ, Wright JR. Glycoprotein-340 Binds Surfactant Protein-A (SP-A) and Stimulates Alveolar Macrophage Migration in an SP-A–Independent Manner. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999;20(4):759–68.
202. Müller H, Renner M, Helmke BM, End C, Weiss C, Poeschl J, et al. Deleted in Malignant Brain Tumors 1 is up-regulated in bacterial endocarditis and binds to components of vegetations. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009;138(3):725–32.
203. Müller H, Hu J, Popp R, Schmidt MHH, Müller-Decker K, Mollenhauer J, et al. Deleted in Malignant Brain Tumors 1 is Present in the Vascular Extracellular Matrix and Promotes Angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(2):442–8.
204. Crouch EC. Surfactant protein-D and pulmonary host defense. *Respir Res*. 2000;1(2).
205. Oho T, Yu H, Yamashita Y, Koga T. Binding of salivary glycoprotein-secretory immunoglobulin A complex to the surface protein antigen of *Streptococcus mutans*. *Infect Immun*. 1998;66(1):115–21.
206. Young A, Rykke M, Smistad G, Rølla G. On the rôle of human salivary micelle-like globules in bacterial agglutination. *Eur J Oral Sci*. 1997;105(5):485–94.
207. Gunput STG, Ligtenberg AJM, Terlouw B, Brouwer M, Veerman ECI, Wouters D. Complement activation by salivary agglutinin is secretor status dependent. *Biol Chem*. 2015;396(1).
208. Leito JTD, Ligtenberg AJM, van Houdt M, van den Berg TK, Wouters D. The bacteria binding glycoprotein salivary agglutinin (SAG/gp340) activates complement via the lectin pathway. *Mol Immunol*. 2011;49(1–2):185–90.
209. Gunput ST, Wouters D, Nazmi K, Cukkemane N, Brouwer M, Veerman EC, et al. Salivary agglutinin is the major component in human saliva that modulates the lectin pathway of the complement system. *Innate Immun*. 2016;22(4):257–65.
210. White MR, Crouch E, Vesona J, Tacke PJ, Batenburg JJ, Leth-Larsen R, et al. Respiratory innate immune proteins differentially modulate the neutrophil respiratory burst response to influenza A virus. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. 2005;289(4):L606–16.

211. Renner M, Bergmann G, Krebs I, End C, Lyer S, Hilberg F, et al. DMBT1 Confers Mucosal Protection In Vivo and a Deletion Variant Is Associated With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2007;133(5):1499–509.
212. Polley S, Prescott N, Nimmo E, Veal C, Vind I, Munkholm P, et al. Copy number variation of scavenger-receptor cysteine-rich domains within DMBT1 and Crohn's disease. *Eur J Hum Genet*. 2016;24(9):1294–300.
213. Madsen J, Kliem A, Tornoe I, Skjodt K, Koch C, Holmskov U. Localization of lung surfactant protein D on mucosal surfaces in human tissues. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2000;164(11):5866–70.
214. Sorensen GL. Surfactant Protein D in Respiratory and Non-Respiratory Diseases. *Front Med*. 2018;5:18.
215. Kishore U, Greenhough TJ, Waters P, Shrive AK, Ghai R, Kamran MF, et al. Surfactant proteins SP-A and SP-D: structure, function and receptors. *Mol Immunol*. 2006;43(9):1293–315.
216. Crouch E, Persson A, Chang D, Heuser J. Molecular structure of pulmonary surfactant protein D (SP-D). *J Biol Chem*. 1994;269(25):17311–9.
217. Lim BL, Wang JY, Holmskov U, Hoppe HJ, Reid KBM. Expression of the Carbohydrate Recognition Domain of Lung Surfactant Protein D and Demonstration of Its Binding to Lipopolysaccharides of Gram-Negative Bacteria. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;202(3):1674–80.
218. Lu J, Willis AC, Reid KB. Purification, characterization and cDNA cloning of human lung surfactant protein D. *Biochem J*. 1992;284 (Pt 3):795–802.
219. Persson A, Chang D, Crouch E. Surfactant protein D is a divalent cation-dependent carbohydrate-binding protein. *J Biol Chem*. 1990;265(10):5755–60.
220. Hartshorn KL, Crouch EC, White MR, Eggleton P, Tauber AI, Chang D, et al. Evidence for a protective role of pulmonary surfactant protein D (SP-D) against influenza A viruses. *J Clin Invest*. 1994;94(1):311–9.
221. Rosseau S, Guenther A, Seeger W, Lohmeyer J. Phagocytosis of viable *Candida albicans* by alveolar macrophages: lack of opsonin function of surfactant protein A. *J Infect Dis*. 1997;175(2):421–8.
222. Clark H, Palaniyar N, Strong P, Edmondson J, Hawgood S, Reid KBM. Surfactant protein D reduces alveolar macrophage apoptosis in vivo. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2002;169(6):2892–9.
223. Wu H, Kuzmenko A, Wan S, Schaffer L, Weiss A, Fisher JH, et al. Surfactant proteins A and D inhibit the growth of Gram-negative bacteria by increasing membrane permeability. *J Clin Invest*. 2003;111(10):1589–602.
224. van de Wetering JK, van Eijk M, van Golde LM, Hartung T, van Strijp JA, Batenburg JJ. Characteristics of surfactant protein A and D binding to lipoteichoic acid and peptidoglycan, 2 major cell wall components of gram-positive bacteria. *J Infect Dis*. 2001;184(9):1143–51.
225. Kuzmenko AI, Wu H, McCormack FX. Pulmonary collectins selectively permeabilize model bacterial membranes containing rough lipopolysaccharide. *Biochemistry*. 2006;45(8):2679–85.
226. McCormack FX, Gibbons R, Ward SR, Kuzmenko A, Wu H, Deepe GS. Macrophage-independent fungicidal action of the pulmonary collectins. *J Biol Chem*. 2003;278(38):36250–6.

227. Wright JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(1):58–68.
228. Madan T, Kishore U, Singh M, Strong P, Clark H, Hussain EM, et al. Surfactant proteins A and D protect mice against pulmonary hypersensitivity induced by *Aspergillus fumigatus* antigens and allergens. *J Clin Invest*. 2001;107(4):467–75.
229. Bridges JP, Davis HW, Damodarasamy M, Kuroki Y, Howles G, Hui DY, et al. Pulmonary surfactant proteins A and D are potent endogenous inhibitors of lipid peroxidation and oxidative cellular injury. *J Biol Chem*. 2000;275(49):38848–55.
230. Kishore U, Bernal AL, Kamran MF, Saxena S, Singh M, Sarma PU, et al. Surfactant proteins SP-A and SP-D in human health and disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2005;53(5):399–417.
231. Wang K, Ju Q, Cao J, Tang W, Zhang J. Impact of serum SP-A and SP-D levels on comparison and prognosis of idiopathic pulmonary fibrosis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(23):e7083.
232. Honda Y, Kuroki Y, Matsuura E, Nagae H, Takahashi H, Akino T, et al. Pulmonary surfactant protein D in sera and bronchoalveolar lavage fluids. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(6 Pt 1):1860–6.
233. Tanaka M, Arimura Y, Goto A, Hosokawa M, Nagaishi K, Yamashita K, et al. Genetic variants in surfactant, pulmonary-associated protein D (SFTPD) and Japanese susceptibility to ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15(6):918–25.
234. Lin Z, John G, Hegarty JP, Berg A, Yu W, Wang Y, et al. Genetic Variants and Monoallelic Expression of Surfactant Protein-D in Inflammatory Bowel Disease: Monoallelic Expression of SP-D in IBD. *Ann Hum Genet*. 2011 Sep;75(5):559–68.
235. Nexoe AB, Pilecki B, Von Huth S, Husby S, Pedersen AA, Detlefsen S, et al. Colonic Epithelial Surfactant Protein D Expression Correlates with Inflammation in Clinical Colonic Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;
236. Palczewska I., Niedźwiecka Z.: Wskaźniki rozwoju somatycznego dzieci i młodzieży warszawskiej. *Med Wieku Rozw* 2001;5:17-118.
237. Levine A, Griffiths A, Markowitz J, Wilson DC, Turner D, Russell RK, et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(6):1314–21.
238. Ryżko J, Woynarowski M: Ocena przebiegu nieswoistych zapaleń jelit u dzieci według systemu punktowego. *Pediatr Pol* 1995, 70, 569–573.
239. Ryżko J, Woynarowski M: Zastosowanie skali punktowej w ocenie aktywności choroby Leśniowskiego–Crohna wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci. *Pediatr Pol* 1995, 70, 585–589.
240. Beharry S, Ellis L, Corey M, Marcon M, Durie P. How useful is fecal pancreatic elastase 1 as a marker of exocrine pancreatic disease? *J Pediatr*. 2002;141(1):84–90.
241. Walkowiak J, Herzig K-H, Strzykała K, Przysławski J, Krawczyński M. Fecal elastase-1 is superior to fecal chymotrypsin in the assessment of pancreatic involvement in cystic fibrosis. *Pediatrics*. 2002;110(1 Pt 1):e7.
242. Cawthon RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res*. 2009;37(3):e21.

243. Lin J, Smith DL, Esteves K, Drury S. Telomere length measurement by qPCR - Summary of critical factors and recommendations for assay design. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;99:271–8.
244. Eisenberg DTA, Kuzawa CW, Hayes MG. Improving qPCR telomere length assays: Controlling for well position effects increases statistical power. *Am J Hum Biol Off J Hum Biol Counc*. 2015;27(4):570–5.
245. A. Kowalska, Wiechmann I, Walter H. Genetic variability of apolipoprotein E in a Polish population. *Hum Biol*. 1998;(70(6)):1093–9.
246. Bednarska-Makaruk M, Broda G, Kurjata P, Rodo M, Roszczyńko M, Rywik S, et al. Apolipoprotein E genotype, lipid levels and coronary heart disease in a Polish population group. *Eur J Epidemiol*. 2001;17(8):789–92.
247. Jasienska G, Ellison PT, Galbarczyk A, Jasiński M, Kalemba-Drozd M, Kapiszewska M, et al. Apolipoprotein E (*ApoE*) polymorphism is related to differences in potential fertility in women: a case of antagonistic pleiotropy? *Proc R Soc B Biol Sci*. 2015 Mar 22;282(1803):20142395.
248. Bojar I, Owoc J, Wójcik-Fatla A, Raszewski G, Stańczyk J, Raczkiewicz D. Cognitive functions, lipid profile, and Apolipoprotein E gene polymorphism in postmenopausal women. *Ann Agric Environ Med AAEM*. 2015;22(2):313–9.
249. Alvarez-Lobos M, Arostegui JI, Sans M, Tassies D, Plaza S, Delgado S, et al. Crohn's disease patients carrying Nod2/CARD15 gene variants have an increased and early need for first surgery due to stricturing disease and higher rate of surgical recurrence. *Ann Surg*. 2005;242(5):693–700.
250. Cystic Fibrosis Mutation Database. dostęp 14.10.2019, <http://www.genet.sickkids.on.ca>.
251. Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 1993 28;329(18):1308–13.
252. Walkowiak J, Herzig KH, Witt M, Pogorzelski A, Piotrowski R, Barra E, et al. Analysis of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis: one mild CFTR mutation does not exclude pancreatic insufficiency. *Eur J Clin Invest*. 2001;31(9):796–801.
253. Ochsenkühn T, D'Haens G. Current misunderstandings in the management of ulcerative colitis. *Gut*. 2011;60(9):1294–9.
254. Iskandar HN, Ciorba MA. Biomarkers in inflammatory bowel disease: current practices and recent advances. *Transl Res J Lab Clin Med*. 2012;159(4):313–25.
255. Sazonovs A, Kennedy NA, Moutsianas L, Heap GA, Rice DL, Reppell M, et al. HLA-DQA1*05 Carriage Associated With Development of Anti-Drug Antibodies to Infliximab and Adalimumab in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2019;S0016508519414145.
256. National Center for Biotechnology Information. dostęp 14.10.2019, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
257. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med*. 2004;141(2):137–47.
258. Al-Meghaiseeb ES, Al-Otaibi MM, Al-Robayan A, Al-Amro R, Al-Malki AS, Arfin M, et al. Genetic association of apolipoprotein E polymorphisms with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol WJG*. 2015;21(3):897–904.

259. Hubacek JA, Peasey A, Pikhart H, Stavek P, Kubinova R, Marmot M, et al. APOE polymorphism and its effect on plasma C-reactive protein levels in a large general population sample. *Hum Immunol*. 2010;71(3):304–8.
260. Mänttari M, Manninen V, Palosuo T, Ehnholm C. Apolipoprotein E polymorphism and C-reactive protein in dyslipidemic middle-aged men. *Atherosclerosis*. 2001;156(1):237–8.
261. Tziakas DN, Chalikias GK, Antonoglou CO, Veletza S, Tentis IK, Kortsaris AX, et al. Apolipoprotein E Genotype and Circulating Interleukin-10 Levels in Patients With Stable and Unstable Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(12):2471–81.
262. Judson R, Brain C, Dain B, Windemuth A, Rúaño G, Reed C. New and confirmatory evidence of an association between APOE genotype and baseline C-reactive protein in dyslipidemic individuals. *Atherosclerosis*. 2004;177(2):345–51.
263. Marz W, Scharnagl H, Hoffmann M, Boehm B, Winkelmann B. The apolipoprotein E polymorphism is associated with circulating C-reactive protein (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Eur Heart J*. 2004;25(23):2109–19.
264. Yun Y-W, Kweon S-S, Choi J-S, Rhee J-A, Lee Y-H, Nam H-S, et al. APOE Polymorphism Is Associated with C-reactive Protein Levels but Not with White Blood Cell Count: Dong-gu Study and Namwon Study. *J Korean Med Sci*. 2015;30(7):860–5.
265. Singh K, Chaturvedi R, Asim M, Barry DP, Lewis ND, Vitek MP, et al. The apolipoprotein E-mimetic peptide COG112 inhibits the inflammatory response to *Citrobacter rodentium* in colonic epithelial cells by preventing NF- κ B activation. *J Biol Chem*. 2008;283(24):16752–61.
266. Gobert AP, Cheng Y, Akhtar M, Mersey BD, Blumberg DR, Cross RK, et al. Protective role of arginase in a mouse model of colitis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2004;173(3):2109–17.
267. Ligtenberg AJM, Karlsson NG, Veerman ECI. Deleted in Malignant Brain Tumors-1 Protein (DMBT1): A Pattern Recognition Receptor with Multiple Binding Sites. *Int J Mol Sci*. 2010;11(12):5212–33.
268. Liu C-F, Chen Y-L, Chang W-T, Shieh C-C, Yu C-K, Reid KBM, et al. Mite allergen induces nitric oxide production in alveolar macrophage cell lines via CD14/toll-like receptor 4, and is inhibited by surfactant protein D. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2005;35(12):1615–24.
269. Sorensen GL, Husby S, Holmskov U. Surfactant protein A and surfactant protein D variation in pulmonary disease. *Immunobiology*. 2007;212(4–5):381–416.
270. Montpetit AJ, Alhareeri AA, Montpetit M, Starkweather AR, Elmore LW, Filler K, et al. Telomere length: a review of methods for measurement. *Nurs Res*. 2014;63(4):289–99.
271. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(10):e47.
272. Terry DF, Nolan VG, Andersen SL, Perls TT, Cawthon R. Association of longer telomeres with better health in centenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63(8):809–12.
273. Romano GH, Harari Y, Yehuda T, Podhorzer A, Rubinstein L, Shamir R, et al. Environmental Stresses Disrupt Telomere Length Homeostasis. Zhou J-Q, editor. *PLoS Genet*. 2013;9(9):e1003721.
274. Lindsey J, McGill NI, Lindsey LA, Green DK, Cooke HJ. In vivo loss of telomeric repeats with age in humans. *Mutat Res*. 1991;256(1):45–8.

275. Fischer BM, Wong JK, Degan S, Kummarapurugu AB, Zheng S, Haridass P, et al. Increased expression of senescence markers in cystic fibrosis airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013;304(6):L394-400.
276. Everaerts S, Lammertyn EJ, Martens DS, De Sadeleer LJ, Maes K, van Batenburg AA, et al. The aging lung: tissue telomere shortening in health and disease. *Respir Res*. 2018 11;19(1):95.
277. Iwama H, Ohyashiki K, Ohyashiki JH, Hayashi S, Yahata N, Ando K, et al. Telomeric length and telomerase activity vary with age in peripheral blood cells obtained from normal individuals. *Hum Genet*. 1998;102(4):397–402.
278. Daniali L, Benetos A, Susser E, Kark JD, Labat C, Kimura M, et al. Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults. *Nat Commun*. 2013;4:1597.
279. Demanelis K, Jasmine F, Chen LS, Chernoff M, Tong L, Shinkle J, et al. Determinants of telomere length across human tissues. *Genetics*; 2019;10.1101/793406.
280. Stout SA, Lin J, Hernandez N, Davis EP, Blackburn E, Carroll JE, et al. Validation of Minimally-Invasive Sample Collection Methods for Measurement of Telomere Length. *Front Aging Neurosci*. 2017;9:397.
281. Goldman EA, Eick GN, Compton D, Kowal P, Snodgrass JJ, Eisenberg DTA, et al. Evaluating minimally invasive sample collection methods for telomere length measurement. *Am J Hum Biol Off J Hum Biol Counc*. 2018;30(1).
282. Podgórski T, Bartkowiak U, Pawlak M. Comparison of hematological parameters of venous and capillary blood in athletes. *Trends Sport Sci*. 2014;1:39–45.
283. Aviv A, Valdes AM, Spector TD. Human telomere biology: pitfalls of moving from the laboratory to epidemiology. *Int J Epidemiol*. 2006;35(6):1424–9.
284. Aviv A. The Epidemiology of Human Telomeres: Faults and Promises. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63(9):979–83.
285. Zeichner SL, Palumbo P, Feng Y, Xiao X, Gee D, Sleasman J, et al. Rapid telomere shortening in children. *Blood*. 1999;93(9):2824–30.
286. O’Callaghan NJ, Fenech M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biol Proced Online*. 2011 Jan 31;13:3.
287. Rufer N, Brümmendorf TH, Kolvraa S, Bischoff C, Christensen K, Wadsworth L, et al. Telomere fluorescence measurements in granulocytes and T lymphocyte subsets point to a high turnover of hematopoietic stem cells and memory T cells in early childhood. *J Exp Med*. 1999;190(2):157–67.
288. Weng N. Telomeres and immune competency. *Curr Opin Immunol*. 2012 Aug;24(4):470–5.
289. Erkeller-Yuksel FM, Deneys V, Yuksel B, Hannet I, Hulstaert F, Hamilton C, et al. Age-related changes in human blood lymphocyte subpopulations. *J Pediatr*. 1992;120(2 Pt 1):216–22.
290. Church JA, Wang C-I, Bowders W. LYMPHOCYTE SUBSETS IN CYSTIC FIBROSIS (CF). *Pediatr Res*. 1987;21(4):310A-310A.
291. Nawrot TS, Staessen JA, Gardner JP, Aviv A. Telomere length and possible link to X chromosome. *Lancet Lond Engl*. 2004;363(9408):507–10.
292. Mayer S, Brüderlein S, Perner S, Waibel I, Holdenried A, Ciloglu N, et al. Sex-specific telomere length profiles and age-dependent erosion dynamics of individual chromosome arms in humans. *Cytogenet Genome Res*. 2006;112(3–4):194–201.

293. von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci.* 2002;27(7):339–44.
294. Carrero JJ, Stenvinkel P, Fellström B, Qureshi AR, Lamb K, Heimbürger O, et al. Telomere attrition is associated with inflammation, low fetuin-A levels and high mortality in prevalent haemodialysis patients. *J Intern Med.* 2008;263(3):302–12.
295. Shiels PG, McGlynn LM, MacIntyre A, Johnson PCD, Batty GD, Burns H, et al. Accelerated Telomere Attrition Is Associated with Relative Household Income, Diet and Inflammation in the pSoBid Cohort. Cimini D, editor. *PLoS ONE.* 2011;6(7):e22521.
296. Ly K, Walker C, Berry S, Snell R, Marks E, Thayer Z, et al. Telomere length in early childhood is associated with sex and ethnicity. *Sci Rep.* 2019;9(1):10359.
297. Gardner M, Bann D, Wiley L, Cooper R, Hardy R, Nitsch D, et al. Gender and telomere length: systematic review and meta-analysis. *Exp Gerontol.* 2014;51:15–27.
298. Martin-Ruiz CM, Baird D, Roger L, Boukamp P, Kronic D, Cawthon R, et al. Is Southern blotting necessary to measure telomere length reproducibly? Authors' Response to: Commentary: The reliability of telomere length measurements. *Int J Epidemiol.* 2015;44(5):1686–7.
299. Martin-Ruiz CM, Baird D, Roger L, Boukamp P, Kronic D, Cawthon R, et al. Reproducibility of telomere length assessment: Authors' Response to Damjan Krstajic and Ljubomir Buturovic. *Int J Epidemiol.* 2015;44(5):1739–41.
300. Verhulst S, Susser E, Factor-Litvak PR, Simons MJ, Benetos A, Steenstrup T, et al. Commentary: The reliability of telomere length measurements. *Int J Epidemiol.* 2015;44(5):1683–6.
301. Krstajic D, Buturovic L. Reproducibility of telomere length assessment. *Int J Epidemiol.* 2015;44(5):1738–9.
302. Lammertyn E, Martens D, Colpaert K, Goeminne P, Proesmans M, Vanaudenaerde B, et al. The association between leukocyte telomere length, telomere attrition and disease severity in cystic fibrosis patients. In: *Cystic Fibrosis. European Respiratory Society; 2017* dostęp 8.08.2019. p. OA4402.
303. Athanasoulia-Kaspar AP, Auer MK, Stalla GK, Jakovcevski M. Shorter telomeres associated with high doses of glucocorticoids: the link to increased mortality? *Endocr Connect.* 2018;7(11):1217–26.
304. Choi J, Fauce SR, Effros RB. Reduced telomerase activity in human T lymphocytes exposed to cortisol. *Brain Behav Immun.* 2008;22(4):600–5.
305. Savale L, Chaouat A, Bastuji-Garin S, Marcos E, Boyer L, Maitre B, et al. Shortened telomeres in circulating leukocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179(7):566–71.
306. Tsuji T, Aoshiba K, Nagai A. Alveolar cell senescence in patients with pulmonary emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174(8):886–93.
307. Diaz de Leon A, Cronkhite JT, Yilmaz C, Brewington C, Wang R, Xing C, et al. Subclinical Lung Disease, Macrocytosis, and Premature Graying in Kindreds With Telomerase (TERT) Mutations. *Chest.* 2011;140(3):753–63.
308. Mather KA, Jorm AF, Milburn PJ, Tan X, Eastaer S, Christensen H. No Associations Between Telomere Length and Age-Sensitive Indicators of Physical Function in Mid and Later Life. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2010;65A(8):792–9.

309. Gaffin JM, Shotola NL, Martin TR, Phipatanakul W. Clinically useful spirometry in preschool-aged children: evaluation of the 2007 American Thoracic Society Guidelines. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma*. 2010;47(7):762–7.